This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

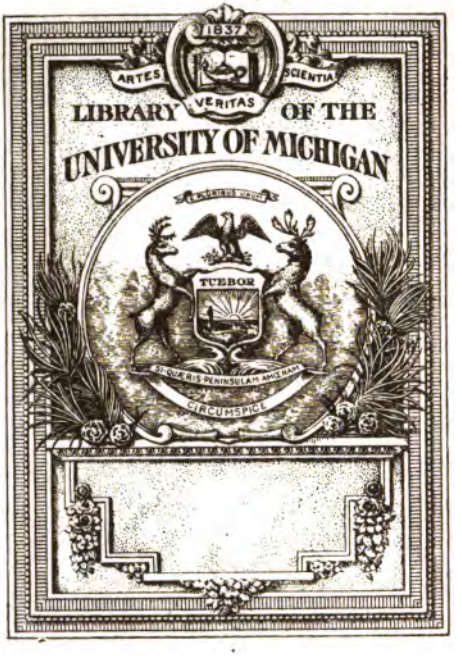
+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.



Digitized by Google

QH
207
.B67
1900

Digitized by Google

Digitized by Google

Taschenbuch

der

mikroskopischen Technik.

Kurze Anleitung

zur mikroskopischen Untersuchung der Gewebe und Organe der Wirbeltiere und des Menschen

unter Berücksichtigung der embryologischen Technik.

Von

Dr. Alexander Böhm und **Dr. Albert Oppel,**
Prosektor a. o. Professor

mit einem Beitrag (Rekonstruktionsmethoden) von Prof. Dr. G. BORN.

Vierte durchgesehene und vermehrte Auflage.

München.
Druck und Verlag von R. Oldenbourg.
1900.

Digitized by Google

Digitized by Google

02 5 17 5 9

Vorwort zur dritten Auflage.

Die Brauchbarkeit des nunmehr in dritter Auflage vorliegenden Büchleins haben wir dadurch zu erhöhen gesucht, dafs wir an passenden Stellen literarische Nachweise eingeschaltet haben. Letztere sind so gewählt, dafs sie entweder die Quellen selbst oder solche Schriften anführen, aus welchen der Lernende näheres über die im Buche erwähnten Methoden erfahren kann. — Die den Autorennamen im Texte beigefügte Zahl weist auf das Jahr hin, in welchem die Arbeit erschienen ist (da wir nur mit Arbeiten aus diesem Jahrhundert zu thun haben, genügten die beiden Endstellen). Hierdurch wird möglich, im Literaturverzeichnis, für welches dieselbe Bezeichnungsweise gewählt wurde, die betreffende Abhandlung leicht aufzufinden. Waren mehrere Aufsätze desselben Autors aus demselben Jahre zu berücksichtigen, so haben wir dieselben durch Beifügung von a, b etc. zu der Jahreszahl unterschieden.

München, im Juli 1896.

Alexander Böhm. **Albert Oppel.**

303659

Digitized by Google

Vorwort zur vierten Auflage.

Seit dem Erscheinen der dritten Auflage unseres Taschenbuches sind drei vorzügliche technische Werke erschienen und zwar von A. Fischer (99), von P. Mayer (Lee und P. Mayer 98) und das leider nicht vollendete von S. Apathy (96), welche wir an passenden Stellen berücksichtigt haben. Manche kleinere Bemerkungen dieser Autoren haben wir auch ohne besondere Namensnennung in die neue Auflage eingesetzt. Da auch sonst die Fortschritte, welche die Technik in den letzten Jahren gemacht hat, berücksichtigt und der Umfang des Büchleins doch nicht zu grofs werden sollte, haben wir den das Mikroskop behandelnden ersten Abschnitt in dieser Auflage gestrichen. Wir verweisen auf die diesen Gegenstand behandelnden, im Literaturverzeichnis aufgeführten Werke von Ambronn (92), Czapski (93), Dippel (82 und 98), Neuhauss (98), Petri (96) und A. Zimmermann (95). Das Kapitel »Rekonstruktionsmethoden«, dessen Schwäche in der alten Auflage wir nicht verkannten, haben wir Herrn Professor Dr. G. Born gebeten, zu bearbeiten, und derselbe hat die grofse Liebenswürdigkeit gehabt, unserer Bitte zu entsprechen.

München, im März 1900.

Alexander Böhm. **Albert Oppel.**

Digitized by Google

Inhalt.

		pag.
	Allgemeiner Teil	1—79
1. Kapitel.	Fixation für allgemeine Zwecke	6
2. »	Durchtränkung	19
	mit Paraffin	20
	mit Celloidin	24
	mit Celloidin-Paraffin	26
3. »	Mikrotom	27
	Ranviers Mikrotom	28
	Jungsches Mikrotom (Schlittenmikrotom nach Thoma)	28
	Schanzes Mikrotom	31
	Weitere Mikrotome	31
4. »	Weiterbehandlung des Schnittes	35
5. »	Aufkleben	37
	von Paraffinschnitten	38
	von Celloidin-Paraffinschnitten	41
	von Celloidinschnitten	41
6. »	Paraffinbefreiung	45
7. »	Einschliefsen	45
8. »	Die Färbung	49
	Karminfärbung	54
	Hämatoxylinfärbung	56
	Teerfarbstoffe	61
	Kernfärbung mit Teerfarbstoffen	62
	Mehrfachfärbung	63
9. »	Rekonstruktionsmethoden, von Professor Dr. G. Born in Breslau	70

Digitized by Google

pag.

Spezieller Teil . . . . 80—206

1. Kapitel. Zelle 80
2. » Epithelien und Endothelien 84
3. » Blut und Lymphe 88
4. » Bindegewebe und Fett 99
5. » Knorpel 107
6. » Knochen und Zähne 109
7. » Muskel, Nervenfaser und Nervenendigungen im Muskel 119
8. » Rückenmark, Gehirn und Ganglien 130
9. » Herz, Blutgefäfse und deren Verteilung, Lymphgefäfse und Saftkanäle 151
10. » Lymphdrüsen und Milz 155
11. » Darm und Drüsen 157
12. » Leber 164
13. » Atmungsorgane; Thyreoidea und Thymus . 169
14. » Niere und Harnwege; Nebenniere 172
15. » Geschlechtsorgane 175
16. » Embryologische Technik 180
17. » Haut, Haare und sensible Nervenendigungen in der Haut 193
18. » Auge 199
19. » Ohr 204
20. » Nase 205

Literaturverzeichnis 207
Autorenregister 223
Sachregister 227
Fehlerberichtigung 240

Digitized by Google

Allgemeiner Teil.

1. Es gibt eine Reihe von Organen und Geweben, welche ohne weiteres im **frischen** Zustande (d. h. von einem lebenden oder soeben getöteten Tiere entnommen, ohne vorher mit irgend einem Reagens in Berührung gekommen zu sein) auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden können. Solche sind beispielsweise die Blutkörperchen, dünne Platten, wie Mesenterium, Omentum; weiter dünne, durchsichtige Nerven, Blutgefäfse, Knorpelstücke, Haare u. s. w., abgestofsene oder abgeschabte Zellen (Epithelien der Mundhöhle), Spermatozoen, Eier und ähnliches.

2. Die handlichste Gröfse der Objektträger (Glasplatten von Rechteckform) ist das englische Format 76 : 26 mm; Deckgläschen (meist 0,1—0,2 mm dicke Glasplättchen) halte man in mindestens zwei Gröfsen vorrätig.

3. Das Töten der Tiere erfolgt zweckmäfsig bei Luftatmern durch Einatmenlassen von Chloroform (indem man die Tiere etwa mit einem mit Chloroform getränkten Wattebausch unter eine Glasglocke oder in eine luftdicht schliefsende Kiste verbringt) oder durch Kopfabschneiden unter eventueller Zerstörung des Gehirnes und Rückenmarkes. Wasseratmer werden in mit Chloroform geschütteltes Wasser verbracht.

4. Bei einigen Tieren, z. B. beim Frosch (siehe § 312 ff.), kann man an einem noch lebenden Tiere zahlreiche Organe resp. Gewebe beobachten (Lunge, Mesenterium, Zunge, Haut, Pigmentzellen, Nerven, Blutgefäfse, Blut u. s. w.); bei demselben Tiere kann man an einer ausgebreiteten Harnblase glatte Muskeln, Epithelien etc. beobachten.

Andere Organe lassen sich durch verhältnismäfsig geringe Eingriffe frisch in Stücke zerlegen, die ohne weiteres beobachtet werden können. Es lassen sich beispielsweise mit Leichtigkeit Sehnen und Muskeln durch Zupfen in Fasern und sog. Fibrillen zerlegen.

Digitized by Google

5. Beim **Zupfen** bediene man sich zweier in Griffen befestigter Nadeln. Handelt es sich um ein Objekt, welches in der Längsrichtung gefasert werden soll, so lege man dasselbe auf einen Objektträger, setze eine Nadel an einer Stelle des Stückes auf und zerfasere mit der andern das Objekt, indem man dieselbe stets zur Längsrichtung des Objekts senkrecht bewegt. Die Nadeln müssen stets rein und spitz sein, man schleife sie auf einem Steine.

6. Einige Gewebe sind so konsistent, dafs man sie mit einem gewöhnlichen Rasiermesser schneiden und in dieser Weise dünne, durchsichtige Lamellen gewinnen kann. Das **Schneiden mit dem Rasiermesser** erfordert Übung, um gute Resultate zu geben. Doch kommt man rascher zum Ziele, wenn man von Anfang an bestimmte Regeln beobachtet.

Man schneide gegen sich (nicht von sich). Man schneide stets ziehend, d. h. so, dafs man mit einer Stelle des Messers beginnt zu schneiden, aber nicht mit dieser Stelle das Stück durchschneidet, sondern die Klinge während des Schneidens ihrer Längsrichtung parallel am Stück vorbeizieht.

Man schneide stets feucht, d. h. das Stück, welches geschnitten wird, darf nicht trocken sein, und die Klinge mufs mit einer geeigneten Flüssigkeit vor jedem Schnitt befeuchtet werden.

Eine ungezwungene Handhaltung ist erforderlich. Man fasse das geöffnete Rasiermesser von oben mit dem Daumen auf der der Schneideseite entsprechenden Partie des Griffs und des anliegenden Messereinsatzes, mit dem Zeige- und Mittelfinger auf dem der Rückenseite entsprechenden Teil.

Das Stück, welches geschnitten werden soll, fasse man fest zwischen die drei ersten Finger der andern Hand, halte dieselbe so, dafs der gekrümmte Zeigefinger parallel der Tischebene steht; man kann nun beim Schneiden den Messerrücken auf den Zeigefinger aufstützen.

Zum Halten des Präparats, wenn es kleine Stücke sind, kann man Holundermark oder in Alkohol gehärtete Leberstücke verwenden.

Zuerst lerne man, kleine, aber möglichst dünne Schnitte machen, dann erst gröfsere.

7. Wohlgeschliffene und gut abgezogene Messer sind das erste Erfordernis für gutes Schneiden. Schneiden und Abziehen lernt man leichter und besser durch das Sehen. Das Rasiermesser mufs stets vor dem Gebrauch auf dem Streichriemen abgezogen werden. Hierbei lege man das Rasiermesser mit seiner ganzen Fläche auf den Riemen

Digitized by Google

und ziehe es mit dem Rücken voran über denselben weg, indem man allmählich während eines Zuges die ganze Länge des Messers mit dem Riemen in Berührung kommen läfst, zuerst die dem Griff nahe Partie, dann die Spitze. Nun wende man das Messer, ohne es wegzunehmen, über den Rücken und verfahre zurück ebenso mit der andern Seite, und so fort.

8. Durch frische, kompakte Organe, wie Niere, Leber etc., lassen sich mit dem Rasiermesser einigermafsen gute Schnitte bei grofser Übung herstellen, die aber dick auszufallen pflegen.

Dünne, durchsichtige Lamellen durch solche Gewebe lassen sich eher mit einem sogenannten **Doppelmesser** anfertigen.

9. Das **Doppelmesser** besteht aus zwei Messerklingen an einem Heft; die parallel gestellten beiden Klingen liegen einander an, so dafs sie sich an der Spitze berühren und nahe dem Heft etwas weiter voneinander entfernt sind. Durch eine Schraube können die beiden Messer einander mehr oder weniger genähert werden. Wird die Schraube gelöst, so kann das eine Messer an einem Scharnier aufgeklappt werden. Für feine Schnitte kommt nur die Stelle des Messers in Betracht, an der die beiden Klingen sich sehr nahe stehen, ohne sich jedoch zu berühren.

Geschnitten wird, indem man mit dem benetzten Doppelmesser rasch ziehend ein Organ, z. B. frische Leber, durchschneidet. Dasselbe zerfällt dann in zwei Teile und in eine feine, zwischen den beiden Klingen befindliche Scheibe. Diese entnimmt man, indem man die Klingen durch Lösen der Schraube und Aufklappen der einen Klinge voneinander entfernt.

10. Will man frische überlebende Organe längere Zeit möglichst unverändert beobachten, so gebraucht man als **Zusatzflüssigkeit** sogenannte indifferente Lösungen, d. h. solche, in welchen erfahrungsgemäfs die zu untersuchenden Elemente sich nur wenig verändern. — Es ist aber sicher, dafs auch bei diesen sogenannten indifferenten Flüssigkeiten von einer Erhaltung der Elemente, wie im Leben, nicht die Rede ist. Als indifferente Lösungen wendet man an:

11. Humor aqueus, Lymphe, Gewebssaft desselben Tieres;

12. die physiologische Kochsalzlösung ($^3/_4$%ige wässerige Lösung);

13. das sogenannte M. Schultzesche (64) Jodserum (Amnios-Flüssigkeit bis zur Sättigung mit Jod oder Jodtinktur versetzt) (ein Gewichtsteil Jod löst sich in 7000 Wasser);

Digitized by Google

14. Jod-Jodkalium nach Ranvier:
100 Wasser,
2 Jodkalium und
Jod bis zur Sättigung;

15. Kroneckersche Flüssigkeit:

destilliertes Wasser	100 g
Chlornatrium	6 »
Natriumkarbonat	0,06 »

16. Die Flüssigkeit von Ripart und Petit:

Kupferchlorid	0,3 g
Kupferacetat	0,3 »
Kampferwasser	75 ccm
dest. Wasser	75 »
Eisessig	1 »

Das Ganze ist unmittelbar nach der Mischung trüb, klärt sich aber nach ein paar Stunden und mufs dann filtriert werden.

17. Die meisten Organe lassen sich im frischen Zustande nicht in dünne Lamellen, weder mit dem Rasier-, noch Doppelmesser, zerlegen; entweder sind sie zu hart, z. B. infolge des Kalkgehaltes, wie Knochen, Zähne, und werden durch Entkalken schnittfähig gemacht (siehe § 353 ff.), oder sie müssen geschliffen werden (siehe § 373 ff.), oder sie sind zu wenig konsistent. Will man letztere in dünne Lamellen zerlegen, so mufs man denselben eine Konsistenz verleihen, die das Schneiden ermöglicht.

Am einfachsten läfst man solche Organe gefrieren (siehe § 110) oder kleinere Stücke trocknen und schneidet sie dann. Ersteres verdient immer noch den Vorzug. Im letzteren Falle untersucht man die Schnitte, indem man denselben so viel Wasser zusetzt, bis sie ihr ursprüngliches Volumen annähernd erreicht haben.

18. Man kann aber die Objekte auf eine andere Weise durch Wasserentziehen, resp. Koagulieren des Eiweifses härten, nämlich durch **Alkohol**. Man wendet die **Alkoholhärtung** entweder in der Weise an, dafs man die nicht zu grofsen Organstücke erst mit schwachen und dann mit stärkeren Alkohollösungen behandelt (für ein 1 ccm grofses Stück mit 50-, 70-, 90%igem Spiritus je 24 Stunden), oder, wenn die Stücke sehr klein sind, nicht über ein paar Millimeter im kleinsten Durchmesser, indem man sie direkt mit 90%igem Spiritus und bei den allerkleinsten unter 1 mm mit absolutem Alkohol härtet.

19. Wir geben nebenstehende Tabelle, welche anzeigt, wieviel Cubikcentimeter destilliertes Wasser man 100 ccm Alkohol von bestimmtem Prozentgehalt hinzuzufügen hat, um einen schwächeren zu erhalten.

Digitized by Google

Beispiel: Man hat 90%igen Alkohol und wünscht 70%igen zu erhalten: Man suche die Vertikalreihe des 90%igen Alkohols, verfolge dieselbe abwärts bis zur Horizontalreihe des 70%igen Alkohols; an dieser Kreuzungsstelle findet man die Zahl 31,05; man muſs also 31,05 ccm Wasser zu 100 ccm 90%igen Alkohol hinzusetzen, um 70%igen zu erhalten.

Prozentgehalt des verdünnten Alkohols.	Prozentgehalt des zu verdünnenden Alkohols.												
	95°	90°	85°	80°	75°	70°	65°	60°	55°	50°	45°	40°	35°
90°	6,50												
85°	13,36	6,56											
80°	20,16	13,79	6,83										
75°	29,66	21,89	14,48	7,20									
70°	39,16	31,05	23,14	15,35	7,64								
65°	50,66	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15							
60°	63,16	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76						
55°	78,36	67,87	57,90	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47					
50°	96,36	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35				
45°	117,86	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	22,90	11,41			
40°	144,86	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55	12,8		
35°	178,86	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	58,31	43,59	27,6	14,3	
30°	224,4	206,22	188,6	171,1	154,3	136,04	118,9	101,7	84,5	67,5	50,6	33,4	16,8

Wir entnehmen diese Tabelle E. de Rouvilles Übersetzung des Taschenbuches ins Französ. 2. Aufl. 1897.

Digitized by Google

20. An frischen Objekten sieht man viele Dinge gar nicht, weil im frischen Zustande die Verschiedenheit des Lichtbrechungsvermögens der einzelnen Bestandteile des Protoplasmas eine sehr geringe ist.

Das Gefrieren und das Trocknen ist sehr eingreifend. Beim Gefrieren kommt es, wie Key und Retzius (82) nachgewiesen haben, durch die sich bildenden Eiskrystalle zu Zerreifsungen, die beim Auftauen des Schnittes nicht ganz ausgeglichen werden. Beim Trocknen schrumpfen die Stücke, namentlich bei sehr wasserhaltigen Organen, sehr stark, wobei es zu Dislokationen kommt, die beim Wasserzusatz nur unvollständig gehoben werden.

Pleuge (96) empfiehlt, die Stücke vor dem Gefrierenlassen mit Formol zu fixieren (s. § 66; es kann schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde geschnitten werden), für Schnelldiagnosen.

Die Härtung mit Alkohol ist ebenfalls für die Erhaltung feiner Strukturen nicht immer geeignet, ja in sehr vielen Fällen, z. B. Kerne, Nerven, Fett, ganz unbrauchbar.

In folgendem beschäftigen wir uns mit der Angabe von Methoden, welche die Einsicht in die Struktur massiger Gewebe und Organe erlaubt, wobei die Strukturverhältnisse einigermafsen erhalten bleiben und den im Leben bestehenden nach Möglichkeit nahe kommen.

1. Kapitel.

Fixation für allgemeine Zwecke.

21. Wir verstehen darunter jene Fixationsmethoden, die auf viele, ja manche auf alle Organe mit gleichem Erfolge angewandt werden. Sie leisten, auf verschiedene Organe angewandt, nicht gleich Gutes, erlauben aber einen Einblick in den allgemeinen Aufbau der Organe.

Die **Fixierung** geschieht in der Regel in der Weise, dafs man einem frisch getöteten Tiere entnommene Stücke in bestimmte Flüssigkeiten, sogenannte Fixierungsflüssigkeiten, legt. Die Gröfse der einzulegenden Stücke ist eine verschiedene; ist die Dicke des Stückes eine geringe, so kommt die Länge und Breite nicht in Betracht; Beispiel: dünne Membranen, da solche von Fixierungsflüssigkeiten rasch durchdrungen werden. Die Stückgröfse kann demnach eine beliebige sein, wenn die kleinste Seite des Stückes die im folgenden stets angegebene Gröfse nicht überschreitet. Um die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit von allen Seiten her zu ermöglichen, ist es notwendig, den

Digitized by Google

Boden der Gefäfse stets mit Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf erst die Stücke zu legen.

22. Stets hat man bei der Fixierung im Auge zu behalten, dafs die Flüssigkeiten die Objekte nicht in dem Zustand zu erhalten vermögen, in welchem sie im Leben sind; vielmehr sehen wir ganz veränderte Verhältnisse und suchen aus diesen auf diejenigen zu schliefsen, welche im Leben herrschen.

Jedenfalls wird durch die Fixierungsflüssigkeiten bei geeigneter Nachbehandlung einer weiteren Veränderung des Objektes vorgebeugt, wie sie eintreten würde, wenn das Objekt sich selbst überlassen bliebe; obwohl nur die gröberen Verhältnisse durch die Fixierungsflüssigkeiten erhalten werden, spricht man doch von der Konservierung eines Objektes. — Auch ist zu beachten, dafs durch die verschiedenen Reagentien die Strukturverhältnisse in ganz verschiedener Weise verändert werden.

23. Die gröberen Veränderungen, welche die Objekte in den Fixierungsflüssigkeiten und bei der folgenden Nachbehandlung erleiden, lassen sich häufig schon äufserlich an der Änderung in Gestalt, Gröfse und Farbe des Objektes erkennen. So kann z. B. die Schrumpfung (infolge der Behandlung entstehende, mit einer Volumverminderung verbundene Gestaltveränderung) eines groben Objektes, bis dasselbe fixiert, nachbehandelt, gefärbt, durchtränkt, geschnitten und eingeschlossen fertig zur Untersuchung kommt, 20% (bei zarten Objekten, z. B. manchen Embryonen bis zu 40%) der ursprünglichen Gröfse betragen, bei relativ guter Konservierung mikroskopischer Strukturen.

24. Bei der Fixierung spielt Fällung der Eiweifskörper durch die Fixierungsmittel eine wichtige Rolle. Die »Fällungskraft« zahlreicher Fixierungsmittel hat A. Fischer (99) an verschiedenen Eiweifskörpern untersucht, von denen er folgende drei herausgreift: 1. Nucleinsäure (aus Hefe), 2. Deuteroalbumose, 3. Serumalbumin. Die erstere wurde gewählt wegen ihrer engen Beziehungen zum Chromatin, die Albumose könnte vielleicht als Verdauungsprodukt in gewissen Geweben erscheinen, das Serumalbumin charakterisiert die beiden grofsen, fixierungstechnisch übereinstimmenden Gruppen der Albumine und Globuline, überhaupt die Gerinnselbildner. Nach dem spezifischen Verhalten dieser Eiweifskörper zu den Fixierungsmitteln und nach der Löslichkeit oder Unlöslichkeit der Niederschläge

Digitized by Google

in Wasser gruppieren sich die wichtigsten Fixierungsmittel folgendermafsen:

I. Nucleinsäure wird nicht oder nur durch starke Konzentration gefällt, Deuteroalbumose wird gar nicht, Serumalbumin sowohl aus alkalischen als saueren Lösungen gefällt.

Salpetersäure, Essigsäure und damit gesäuerter Alkohol. Unzuverlässige Fällungsmittel, die im Überschufs oft wieder lösen.

II. Nucleinsäure wird gar nicht, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden nur aus sauren, nicht aus alkalischen (oder neutralen) Lösungen gefällt. Die Niederschläge sind unlöslich.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Altmanns Gemisch, Müllersche Flüssigkeit.

III. Nucleinsäure, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden bei jeder Reaktion gefällt.

1. Die Fällung der Nucleinsäure und der Deuteroalbumose ist in Wasser leicht löslich; Serumalbumin wird koaguliert.
   Alkohol, Aceton, Pikrinsäure, Pikrin-Schwefelsäure.
2. Alle Fällungen in Wasser unlöslich.
   Chromsäure, Sublimat, Platinchlorid, Formaldehyd, Flemmingsche Flüssigkeit (Chrom-Osmium-Essigsäure), Hermannsche Flüssigkeit (Platinchlorid-Osmium-Essigsäure).

Hier würden sich noch die meisten Gemische anschliefsen, z. B. Chrom-Essigsäure, Chrom-Ameisensäure, Chromsäure-Platinchlorid, Sublimat-Essigsäure, kurz alle, die mit Chromsäure oder Sublimat oder Platinchlorid versetzt sind, wenn auch die andere Komponente zu Gruppe I, II oder III gehört.

Eingehend bespricht Fischer (99) auch die Bedeutung des Umstandes, dafs Eiweifskörper, welche durch Fixierungsmittel mit geringer Fällungskraft nicht gefällt wurden, bei der Nachbehandlung durch Alkohol gefällt werden können, so dafs das schliefsliche Resultat oft weniger der angewandten Fixierungsflüssigkeit als der Nachbehandlung zuzuschreiben ist.

Wenn auch nicht alle Beobachtungen Fischers an Eiweifskörpern in vitro ohne weiteres auf die lebende Zelle übertragen werden dürfen, so enthalten sie doch das erste methodische Studium der Fixierungsmittel und lehren auf jeden Fall so viel, dafs nicht sämtliche in der Zelle nach

Digitized by Google

Einwirkung von Fixierungsmitteln sichtbare Strukturen, insbesondere jedes Körnchen, auch schon im Leben vorhanden waren. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, dafs alle Strukturen in fixierten Objekten Kunstprodukte, Gerinnungserscheinungen sind; wir können vielmehr behaupten, dafs eine grofse Anzahl Differenzierungen des Protoplasmas und des Kernes, welche wir direkt im Leben zu beobachten im stande sind (Flemming 82), durch gewisse Fixierungsmittel erhalten werden. A. Fischer hat uns den Weg gezeigt, wie man experimentell vorgehen mufs, wenn man die nach der Einwirkung von Fixierungsflüssigkeiten auftretenden Bilder auf die im Leben bestehenden beziehen will.

Wir schildern der Reihe nach die heute gebräuchlichsten Fixierungsflüssigkeiten.

25. Alkohol, angewendet in der in § 18 geschilderten Weise, namentlich in stärkeren Konzentrationen (90 %ig, absolut), kann, wenn es sich nicht um feinere Strukturverhältnisse handelt, auch als Fixierungsflüssigkeit dienen.

26. Nach Fischer (99) wird der Alkohol infolge seiner grofsen allseitigen Fällungskraft und der Koagulierung der meisten Eiweifskörper wohl geeignet sein, dauerhafte Niederschläge zu bilden, während er anderseits vollkommen untauglich ist, aus Albumosen und Nucleinsäure bestehende, im Leben noch ganz oder halb gelöste Bestandteile der Zelle in den Präparaten zu erhalten.

27. Ein sehr auffälliges Kunstprodukt nach der Alkoholbehandlung soll hier erwähnt werden: das Protoplasma und die Kernsubstanz entfernen sich innerhalb der Zelle möglichst weit von der Oberfläche des in Spiritus fixierten Stückes und werden in der sonst leeren Zelle wandständig (»die Flucht des Inhaltes der Zelle gegen den Mittelpunkt des Stückes«, Tellyesniczky 98). Diese Veränderungen sind an der Peripherie des Objektes am auffallendsten. Ähnliches findet sich bei der Behandlung mancher Embryonen mit Perényischer Flüssigkeit vor.

28. Chromsäure wird meistens in einer $^1/_3$- bis $^1/_2$%igen wässerigen Lösung angewandt. Die zu fixierenden Stücke, je kleiner, desto besser, nicht über 1 cm im kleinsten Durchmesser betragend, werden in sehr viel Chromsäure, mindestens 50mal mehr Flüssigkeit, als wie das Volumen des zu fixierenden Stückes beträgt, auf 24 Stunden gelegt. Bei gröfseren Stücken kann die Flüssigkeit nach 24 Stunden gewechselt werden und das Stück in einer frischen, ebenso starken oder etwas stärkeren, etwa $^1/_2$%igen, abermals 24 Stunden verbleiben. Die Stücke werden nun

Digitized by Google

ausgewässert, und zwar in grofsen Mengen Wassers, das oft gewechselt wird, oder noch besser im fliefsenden Wasser. Das Auswaschen dauert ebenso lange wie das Fixieren; es sollen die Stücke nach dem Auswaschen möglichst wenig von der gelben Chromfarbe mehr besitzen.

Aus dem Wasser kommen die fixierten, fast farblosen Stücke auf 24 Stunden in 70%igen Spiritus, um nach 24 Stunden in 90%igen Spiritus übertragen zu werden. Die Menge des zu benutzenden Spiritus mufs mindestens das Volumen des Stückes 30 mal überschreiten. Letztere Operationen werden im Dunkeln vorgenommen.

Die Chromsäure wurde zuerst von Hannover (40) als Fixationsflüssigkeit empfohlen und wurde später sehr allgemein benutzt; sie fixiert ziemlich gut die chromatischen Substanzen des Kernes.

Die Chromsäure geht mit Eiweifs und Leim schwerlösliche Verbindungen ein und wird deshalb als Fixierungsmittel gebraucht. v. Tappeiner (90).

29. Das **doppelt chromsaure Kalium** (Synonyme: saures chromsaures Kalium, dichromsaures Kalium) in von 2 auf 5% ansteigender (d. h. zuerst in 2%iger, beim Wechseln 3%iger, dann 4 etc. %iger) wässeriger Lösung, die Müllersche und Erlickische Flüssigkeit kommen bei der Untersuchung verschiedener Organe in Anwendung. Das Kalium bichromicum und die Müllersche Flüssigkeit werden ziemlich in gleicher Weise benutzt, aber, wie gesagt, Kalium bichromicum in ansteigender Konzentration. Auch hier empfiehlt sich Behandlung im Dunkeln.

30. Die **Müllersche** (59) **Flüssigkeit** besteht aus
2 bis $2^1/_2$ g Kalium bichromicum,
1 g Natrium sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Nicht allzu grofse Stücke werden in diesen Flüssigkeiten sehr lange Zeit im Dunkeln fixiert; in der ersten Woche wird die Flüssigkeit alle zwei Tage gewechselt, später jede Woche zweimal; mitteldicke Objekte, wie z. B. Rückenmark des Menschen, brauchen mindestens 6—8 Wochen.

31. Beträchtlich kürzere Zeit bei ziemlich gleichen Resultaten und bei gleicher Anwendung nimmt die **Erlickische Flüssigkeit** in Anspruch. Sie besteht aus
$2^1/_2$ g Kalium bichromicum,
$^1/_2$ g cuprum sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Digitized by Google

Man wechselt die Flüssigkeit alle zwei Tage. Die Fixierung erfolgt in 3—4mal kürzerer Zeit wie bei der Müllerschen.

32. Tellyesniczky (98) empfiehlt 3%igem Kalium bichromicum 5% Essigsäure zuzusetzen, nur 1—2 Tage zu fixieren, in reichlichem Wasser auszuwaschen und die Nachbehandlung mit 15%igem Alkohol zu beginnen.

33. Die Bedeutung des Essigsäurezusatzes zu Kaliumbichromat erhellt aus den Untersuchungen von A. Fischer (99), indem durch Kaliumbichromat zahlreiche Eiweifskörper namentlich aus alkalischer Lösung nicht gefällt werden, die alle beim Ansäuern sofort ausfallen.

34. Bei diesen langsam fixierenden Flüssigkeiten kommt es klar zum Ausdruck, von welch grofsem Einflufs die Temperatur ist. Bei höherer Temperatur braucht man nämlich viel kürzere Zeit wie bei der niederen; so kann man mit Erlickischer Flüssigkeit beispielsweise in einem künstlich auf 40° geheizten Raume ein Rückenmark des Menschen in 4—5 Tagen genügend fixieren.

Müllersche Flüssigkeit bei einer Temperatur von 30 bis 40° C., also im Thermostat (siehe § 82), fixiert in 8—10 Tagen.

Der Flüssigkeit setze man etwas Kampfer zu (gegen Mikroorganismen). Hier wie überall mache man es sich zur Regel, den Boden der Gefäfse mit Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf die zu behandelnden Stücke zu legen.

Für allgemeine Zwecke werden die fixierten Stücke mit oft zu wechselndem, resp. fliefsendem Wasser ausgewaschen, bis sie keine Farbe mehr abgeben, 1—2 Tage, dann in 70%igen Spiritus auf 24 Stunden übertragen, dann in 80%igen.

35. Um die lästigen Niederschläge nach der Fixierung mit Erlickischer Flüssigkeit zu beseitigen, genügt nach Löwenthal ein Einlegen derselben vor Behandlung mit Alkohol in ½%ige Chromsäure oder aber in warmes Wasser oder ein schwach mit Salzsäure angesäuertes Wasser (Edinger).

36. Die oben erwähnten Substanzen eignen sich nicht für das Studium der Kerne, da letztere stark angegriffen, und deren Bestandteile zum Teil darin gelöst werden. Diese Flüssigkeiten werden gegenwärtig viel weniger wie früher gebraucht, spielen aber noch heute, namentlich bei der Untersuchung des Nervensystems (siehe § 445 ff.) und des Auges, eine wichtige Rolle.

37. Osmiumtetroxyd, Synonyme: Überosmiumsäure, Osmiumsäure, wurde von Max Schultze und Rudneff [65] in die Technik eingeführt. Die Osmiumsäure ist sehr

Digitized by Google

teuer, 1 g kostet ca. 3 Mark; sie ist sehr giftig, und die Dämpfe derselben greifen aufserordentlich die Schleimhäute an. Aus der wässerigen Osmiumsäurelösung bewirken die reduzierenden Agentien (auch Sonnenlicht) das Ausscheiden des metallischen schwarzen Osmiums; dieselbe wird deshalb in schwarzen Flaschen aufbewahrt. Die Osmiumsäure ist in hermetisch geschlossenen, gewöhnlich 1 g haltigen Gläsern käuflich.

38. Die Überosmiumsäure wird in einer $^1/_2$- bis 1-, ja 2 %igen wässerigen Lösung angewandt. Gewöhnlich nimmt man eine 1 %ige Lösung. Die Osmiumsäure fixiert momentan, dringt aber nicht tief genug in die zu fixierenden Stücke ein; man wähle deshalb möglichst kleine Stücke, denn bei einem gröfseren werden blofs die an der Oberfläche des Organs gelegenen Zonen etwa $^1/_2$ mm tief durch die Osmiumsäure fixiert. Die Osmiumsäure hebt Verschiedenes hervor, indem sie gleichzeitig durch Oxydieren die natürlichen Farben verschiedener Gewebe verschieden verändert. So werden die Kerne schmutzig-gelb, elastische Fasern graubraun, Fett und Nervenmark schwarz etc. In einem sehr gut verschlossenen Glase läfst man die Flüssigkeit etwa 24 Stunden einwirken, man spült die Stücke etwa 2 Stunden, auch länger, mit destilliertem Wasser ab und überträgt dieselben direkt in 90 %igen Spiritus, wo sie bis zum weiteren Bearbeiten verbleiben.

39. Die Osmiumsäure wird auch in Dampfform angewandt, namentlich, wenn sehr kleine Gewebsteile oder Organismen sehr rasch getötet werden sollen.

Die Osmiumsäure-Räucherung geschieht so, dafs in ein Glas auf den Boden einige Tropfen Osmiumsäure gebracht werden. Man lege das Objekt oder hänge es mit einem Faden in das Glas, so dafs das Objekt selbst von der Osmiumsäure nicht berührt wird, und bedecke das Glas mit einem Glasdeckel.

40. Die mit Osmiumsäure fixierten Objekte lassen nach Flemming auch eine Nachfärbung mit Hämatoxylin oder mit Alaunkarmin zu; besonders schön werden Präparate der Retina.

41. Osmiumsäure allein ist nach A. Fischer (99) ein sehr schwaches und unvollständiges Fällungsmittel für Eiweifskörper. Sie erzeugt nur dann Niederschläge in den Zellen (Gerinnungen), wenn sie sauer reagieren; alkalischem Zellinhalt gegenüber wird sie stets versagen. Bei geringem Ansäuern mit Essigsäure fallen die genannten Stoffe sofort in wasserunlöslicher Form aus.

Digitized by Google

42. Die von Flemming empfohlene **Chrom-Essigsäure** eignet sich namentlich zur Fixierung der achromatischen Fäden. Sie besteht aus:

$^1/_5$—$^1/_4$ g Chromsäure,
$^1/_{10}$ ccm Eisessig und
100 ccm Wasser.

Die in dieser Flüssigkeit zu fixierenden Stücke dürfen nie $^1/_2$ cm im kleinsten Durchmesser überschreiten. Die Stücke werden ca. 24 Stunden in dieser Flüssigkeit belassen, sie werden 24 Stunden im fliefsenden Wasser abgespült und durch 70 %igen und 80 %igen Spiritus je 12 Stunden in 90 %igen übertragen. Die Färbung für den angedeuteten Zweck wird z. B. mit Hämatoxylin vorgenommen.

43. Eine ausgezeichnete Fixierungsflüssigkeit für Kerne und Protoplasmastrukturen ist die **Chrom-Essig-Osmiumsäure-Mischung** von **Flemming** (82 und 95 a). Die Formel für diese heifst:

$^1/_4$ g Chromsäure,
$^1/_{10}$ » Osmiumsäure,
$^1/_{10}$ ccm Eisessig,
100 » destill. Wasser.

Da die Osmiumsäure nur in $^1/_2$ resp. 1 g enthaltenden, hermetisch verschlossenen Gläsern verkauft wird, so würde man das Fünf- resp. das Zehnfache jeder der genannten Substanzen auf 500 resp. 1000 g Wasser nehmen. Da aber die betreffende Flüssigkeit namentlich bei öfterem Öffnen und Lichteinwirkung sich beim längeren Aufbewahren zersetzt, so ist es nicht unzweckmäfsig, jene Flemmingsche Formel auf eine 1 %ige Osmiumsäure-, 1 %ige Essigsäure- und 1 %ige Chromsäure-Lösung umzurechnen, da diese Reagentien in diesen Konzentrationen in den Laboratorien gewöhnlich gehalten werden und das so lästige Abwägen und Abmessen kleinerer Quantitäten vermieden wird; und so bekäme man umgerechnet:

10 ccm einer 1 %igen Osmiumsäure,
10 » eines 1 %igen wässerigen Eisessigs,
25 » einer 1 %igen Chromsäure und
55 » Wasser.

Die Anwendung dieser Flüssigkeit ist eine sehr ausgiebige, und zwar für die Gewebe der erwachsenen und sich entwickelnden Tiere. Man braucht nicht sehr viel von der Flüssigkeit beim Fixieren immer kleiner Stücke,

Digitized by Google

nicht über $^1/_3$ cm Seite anzuwenden. Man läfst die Flüssigkeit wenigstens 24 Stunden, besser länger, selbst wochenlang einwirken, wäscht die so fixierten Stücke 24 Stunden in fliefsendem Wasser aus und überführt sie dann durch 70 %igen und 80 %igen Spiritus, je 24 Stunden angewendet, in 90 %igen Spiritus.

44. Die beste Färbung der Schnitte nach dieser Fixation ist die mit Safranin. Alles das, was mit Safranin bei einer bestimmten Anwendung desselben (bei maximalem Auszug) intensiv rot gefärbt bleibt, wird Chromatin genannt.

45. Eine stärkere, von Flemming angegebene Lösung ist folgende:

Chromsäure	1 %ig	— 15	Vol.
Osmiumsäure	2 %ig	— 4	»
Eisessig		— 1	»

Die hierfür nötige 2 %ige Osmiumsäure mufs auch für andere Zwecke (s. z. B. § 622) vorrätig gehalten werden.

46. Folsche (84) Mischung:

Osmiumsäure	1 %ig	2	Vol.
Chromsäure	1 %ig	25	»
Eisessig	2 %ig	5	»
Wasser		68	»
		100	Vol.

Anwendung wie die der Flemmingschen Lösung.

47. Hermannsche Mischung. Ebenfalls mit ausgezeichnetem Erfolg wendet man Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig (1 %ige wässerige Platinchlorid-Lösung 15 ccm, 2 %ige Osmiumsäure 4 ccm und Eisessig 1 ccm) an. Behandlung wie mit Flemmingscher Flüssigkeit (Hermann [93]).

Nach dieser, sowie der Flemmingschen Lösung und ähnlichen Osmiumgemischen, kann roher Holzessig in Anwendung kommen. Man läfst die Objekte im letzteren 12—24 Stunden liegen und behandelt mit Alkohol. Es tritt hierbei eine eigentümliche Färbung des Objektes ein, welche eine nachträgliche Färbung desselben oft entbehrlich macht (Hermann [93]).

Von den von vom Rath (95) angegebenen Flüssigkeiten erwähnen wir drei:

48. Die Pikrinosmium-Essigsäure. Zu 1000 ccm kalt gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung werden 1 g Osmiumsäure und nach einigen Stunden 4 ccm Eisessig zugefügt. Fixierung je nach der Gröfse des Objektes $^1/_4$ — 1 oder 24 bis 48 Stunden, dann direkt in 75 %igen Alkohol. Lange färben.

49. Die Pikrinosmium-Platinchlorid-Essigsäure. Zu 200 ccm wässeriger konzentrierter Pikrinsäure giefse man 25 ccm einer

Digitized by Google

2 %igen wässerigen Osmiumsäure, ferner 1 g Platinchlorid in 10 ccm Wasser gelöst und schliefslich 2 ccm Eisessig zu (starke Lösung). Will man eine schwache Lösung, so nehme man nur 12 ccm einer 2 %igen Osmiumsäure an Stelle von 25 ccm. Einwirkung je nach Gröfse des Objektes $^1/_4$ Stunde bis tagelang, im letzteren Fall mufs die Flüssigkeit gewechselt werden. Übertragen in 75, dann 95 %igen und absoluten Alkohol nach eventueller 12—24 stündiger Behandlung mit unreinem Holzessig. In Safranin und dann Hämatoxylin lange färben, auch ungefärbt untersuchen.

50. Pikrin-Sublimat-Osmiumsäure. Man gebe zu 100 ccm wässeriger Pikrinsäure 100 ccm Sublimatlösung und dann 20 ccm 2 %ige Osmiumsäure. (Man kann auch noch 2 ccm Eisessig zufügen.) Nachbehandlung mit rohem Holzessig oder Tannin, Entfernung von Sublimatniederschlägen mit Jodalkohol. Lange färben.

51. Sublimat (Hydrargyrum bichloratum, Quecksilberchlorid, in dieser Gebrauchsart eingeführt von A. Lang [78], 1 Teil löst sich in 16 Wasser, oder 4 Alkohol absolutus oder 4 Äther; Lösungen von Sublimat in Wasser sind haltbarer bei Kochsalzzusatz) wird für gewöhnlich in einer gesättigten Lösung angewandt. Man stellt diese am besten folgendermafsen her: Man nehme etwa 75 g Sublimat auf 1000 Wasser und löse es durch Erwärmen, filtriere die warme Lösung und lasse sie erkalten. Haben sich am Boden des kalt gewordenen Gefäfses weifse Krystallnadeln gebildet, so ist die überstehende Flüssigkeit als eine gesättigte zu betrachten. Stücke, nicht über $^1/_3$ cm Seite, werden in dieser Flüssigkeit je nach der Gröfse 1 bis 3 Stunden fixiert, hierauf mit 70 %igem Spiritus behandelt 24 Stunden lang, auf ebenso lange Zeit in 80 %igen übertragen und in 90 %igem Spiritus bis zur Bearbeitung aufbewahrt. Da die Lösung eine konzentrierte ist, so kommt es namentlich bei Temperaturschwankungen im Zimmer zur Bildung von Krystallen in den zu fixierenden Stücken. Dabei kommt es niemals zu bemerklichen Zerreifsungen und Dislokationen in den Geweben. Die Krystalle erscheinen bei durchfallendem Lichte schwarz und verdecken so das Darunterliegende; es ist also wünschenswert, diese Krystalle zu entfernen, ohne dabei die fixierten Gewebe irgendwie zu alterieren. Man thut am besten, wenn man kleine Mengen (einige wenige Tropfen auf 100 ccm) einer Jodtinktur (P. Mayer [87]) (eine gesättigte alkoholische Jodlösung) oder Jodjodkalium in Wasser (s. § 14) zu dem wasserentziehenden Spiritus hinzusetzt. Es darf Jod so

Digitized by Google

lange hinzugesetzt werden, bis die schwachgelbe Farbe der Flüssigkeit nicht mehr schwindet, und zwar kann dieser Zusatz sowohl zu dem 70%igen Spiritus, als wie zu dem nun anzuwendenden 80%igen, als zu dem nach 24 Stunden anzuwendenden 90%igen erfolgen. Die störenden Sublimatkrystalle in den fixierten Stücken (noch besser bei zarten Objekten in Schnitten) werden dadurch entfernt.

Für Sublimat hat man metallene Instrumente zu vermeiden; man verwende Hornlöffel, Glasnadeln und Holzstäbchen.

52. Eine raschere Fixation erhält man bei Anwendung einer auf etwa 40° C erwärmten Sublimatlösung. Stärkere Erhitzung auf die Koagulationstemperatur des Eiweifses oder gar bis zum Kochen geben auch für kleinere Objekte weniger gute Resultate, da hier mehr die Wärme als die Wirkung des Sublimats zur Geltung kommt.

53. Sublimat-Kochsalzlösung; statt Wasser nehme man 0,5% Kochsalzlösung. Anwendung wie Sublimatwasser.

54. **Sublimatalkohol:** 3—4 g Sublimat, 0,5 g Kochsalz 100 ccm 50%iger Spiritus, 12—24 Stunden fixieren, dann Alkohol mit Jodzusatz etc. wie oben.

55. Sublimat läfst die meisten Färbungen zu, die Anilinfarben nicht ausgeschlossen; neben den Schnittfärbungen sind besonders die Stückfärbungen mit Boraxkarmin (s. § 184) und Parakarmin (s. § 187) vor dem Schneiden zu empfehlen.

56. Sublimat-Chromsäure (Lo Bianco.) Konzentrierte wässerige Sublimatlösung und 1%ige Chromsäure werden im Verhältnis von 2 Vol. zu 1 Vol. gemischt. Darin wird, je nach der Gröfse des Objektes, 2—4 Stunden fixiert, dann wird mit Wasser abgespült und in 70%igen Alkohol übertragen mit Jodzusatz wie in § 51. Nur für kleine Objekte nicht über $^1/_2$ cm im Durchmesser. Die Methode wird für spezielle Zwecke (siehe das Kapitel über embryologische Technik, Amphibien) angewandt.

57. Zenkersche Flüssigkeit. Zu 100 ccm Müllerscher Flüssigkeit fügt Zenker (94) 5 g Sublimat und 5 ccm Eisessig. Die Stücke werden in diesem Gemisch mindestens 24 Stunden belassen, mit fliefsendem Wasser ausgewaschen und allmählich in starken Alkohol übergeführt. Die Zenkersche Flüssigkeit soll sehr leicht in die Gewebe eindringen und Kern- und Protoplasmastrukturen gleich gut fixieren, ohne hierbei das Färbungsvermögen der Elemente zu beeinträchtigen. Siehe auch Mercier (94).

Digitized by Google

58. Eine 3—5%ige **Salpetersäure** (gemeint ist Acidum nitricum purissimum mit 70% Säuregehalt und mit 1,40 spezifischem Gewicht) auf kleine Stücke angewandt, liefert, sehr Gutes. Man fixiere nicht über sechs Stunden und übertrage die Objekte in 70%igen Spiritus, welcher nach 24 Stunden mit 80%igem und nach abermals 24 Stunden mit 90%igem vertauscht wird.

Stärkere Säurelösungen, namentlich wenn sie längere Zeit einwirken, lösen das Chromatin.

59. Kalt gesättigte wässerige Pikrinsäure-Lösung (es löst sich ungefähr $^3/_4$ g Pikrinsäure in 100 ccm kalten Wassers) allein kann mit Erfolg für kleinere und auch mittelgroſse Objekte als Fixierungsflüssigkeit angewandt werden. Man kann sie je nach der Gröſse des Objektes einige Tage und selbst Wochen wirken lassen, auswaschen mit Wasser, Alkohol. Färbung mit Hämatoxylin, Karmin u. s. w.

Pikrinsäure (allein oder in Kombination mit Überosmiumsäure) wurde zuerst von Gasser (78) empfohlen.

Bei Pikrinsäurefixierung erscheinen, wie angegeben wird, die Zellkontouren resp. Zellgrenzen deutlicher.

60. Für Organe, die nicht viel Bindegewebe enthalten, und namentlich für embryologische Zwecke, wendet man die **Pikrin-Schwefelsäure von Kleinenberg** (s. in Foster und Balfour 76) resp. die **Pikrin-Salpetersäure von Paul Mayer** (81) an. Die erstere Flüssigkeit wird in folgender Weise dargestellt: Man nimmt eine gesättigte Pikrinsäurelösung in Wasser und bringt 1 Volumen konzentrierte Schwefelsäure in 100 Pikrinsäure, wobei sich ein reichlicher Niederschlag bildet Nach 24 Stunden wird filtriert und das Filtrat mit zweifachem Volumen Wasser versetzt.

Die Pikrin-Salpetersäure wird in der Weise bereitet, daſs man zu 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure 2 ccm offizineller Salpetersäure zusetzt; es bildet sich nach und nach ein Niederschlag, der durch Filtrieren entfernt wird. Die so gewonnene Flüssigkeit ist nun zum Gebrauche fertig.

Es werden möglichst kleine Stücke, auf keinen Fall über $^1/_2$ cm Seite in einer der beiden zuletzt genannten Flüssigkeiten nicht über 3 Stunden belassen. Die intensiv gelb gewordenen Stücke werden mit oft zu wechselndem 70-, 80- und 90%igem Spiritus je 24 Stunden gewaschen, bis die gelbe Farbe fast vollständig verschwindet. Man färbt mit besonderem Erfolg Schnitte, so fixierten Präparaten entnommen, mit Hämatoxylin.

Digitized by Google

61. Pikrinsublimat. Rabl (94) empfiehlt folgendes Gemisch:

konz. wässerige Sublimatlösung . . 1 Vol.
» » Pikrinsäure-Lösung . 1 »
Aqua dest. . . . . 2 »;

Fixierung 12 Stunden; dann ein paar Stunden in Wasser, dann in Alkohol von anfangs schwacher, jedoch rasch ansteigender Konzentration, so dafs das Präparat schon nach etwa 24 Stunden in starkem, 80—90%igem Alkohol liegt. Jodtinkturzusatz zum absoluten Alkohol (speziell für Embryonen, namentlich ältere, auch für Keimscheiben).

Schaffer (96) empfiehlt diese Lösung unverdünnt (also Sublimatlösung 1 Vol., Pikrinsäure-Lösung 1 Vol.) für Gewebe und Organe. Das Auswaschen nach der Fixierung (12 bis 48 Stunden) soll unterbleiben, vielmehr kommen die Stücke direkt in Alkohol, dem man Jodtinktur und Lithionkarbonat zur Entfernung des Sublimats und der Pikrinsäure zufügt.

62. Die Perényische (82) Flüssigkeit hat folgende Zusammensetzung:

Salpetersäure von 10% . . . 40 ccm,
abs. Alkohol . . . . . 30 »
wässerige Chromsäure von ½% 30 »;

sie fixiert kleine Objekte in wenigen Stunden; Auswaschen in 70%igem Spiritus.

Für die Fixation sowohl chromatischer, wie achromatischer Figuren hat Rabl (85) folgende zwei Flüssigkeiten empfohlen:

63. Die Chrom-Ameisensäure wird in der Weise bereitet, dafs man zu

100 ccm einer ⅓%igen Chromsäure-Lösung
2—3 Tropfen Ameisensäure

zusetzt. Möglichst kleine Stücke werden, auf 12—24 Stunden in diese Flüssigkeit gebracht, ebenso lange Zeit mit Wasser gewaschen. Dann werden sie in 60 bis 70%igen Spiritus auf 24—36 Stunden übertragen und kommen direkt in absoluten Alkohol. (Die chromatischen Figuren quellen in dieser Lösung etwas auf.)

64. In analoger Weise für dieselben Zwecke wird eine ⅓%ige Platinchlorid-Lösung angewandt. Sie wird weder durch Licht noch Wärme reduziert. (Dieses Fixierungsmittel bewirkt eine geringe Schrumpfung in den chromatischen Fäden.)

65. Platinchlorid-Sublimat Rabl (94):

Platinchloridlösung 1%ig . . . . 1 Vol.
Sublimatlösung konz. wässerige . . 1 »
Aqua destill. . . . . 2 »

Behandlung wie bei Pikrinsublimat (siehe § 61).

Grofse Quantitäten Fixierungsflüssigkeit! Geeignet besonders für Embryonen.

Digitized by Google

66. Formol, eingeführt von F. Blum und von dessen Vater in die Konservierungspraxis (das käufliche Formol enthält 40 % Formaldehyd), wird meist in der Konzentration von 1 Volumen Formol auf 10 Volumina Wasser angewandt.

Diese Flüssigkeit eignet sich vorzüglich zur Konservierung für makroskopische Zwecke, da sie die Formen und natürlichen Farben gut erhält. Für histologische Zwecke hat sich diese Lösung nicht bewährt.

Fischer (99) meint, die gebräuchliche Konzentration wäre viel zu schwach und sieht die 25 %ige Formollösung als die rationellste an. —

Formol ist auch von Wert, weil Präparate, welche mit der Golgischen (siehe § 472) oder Weigertschen (s. § 486) Methode behandelt werden sollen, in Formol vorher längere Zeit aufbewahrt werden können.

67. Betreffend die Darstellung histologischer Feinheiten mit Lysol in 10 %iger Lösung (event. Lysol 10, Aq. 60, Alk. 30; oder Lysol 10, Aq. 50, Alk. 30, Glycerin 10) an frischen Geweben (Spermatozoen, Haare, Auge, Niere, Epithelzellen, glatte und quergestreifte Muskelfasern, Nerven, Bindegewebe, hyaline Knorpel, Knochen, verhornte Epithelien) verweisen wir auf Reinke (93) und A. Fischer (99, pag. 29).

68. Hat man Objekte nach den in diesem Kapitel gegebenen Vorschriften fixiert und nachbehandelt, so können die in Alkohol befindlichen Präparate, wie dies in den folgenden Kapiteln geschildert wird, durchtränkt und geschnitten werden. Bleiben aber solche Präparate längere Zeit im Alkohol liegen, so gehen sie noch weitere bemerkbare Veränderungen ein, manche Objektewerden z. B. so hart, dafs sie nur schwer zu schneiden sind. Es kann daher unter Umständen vorteilhaft sein, Material, welches man nicht sofort schneiden will und für welches man bei längerem Verweilen in Alkohol Schaden fürchtet, sofort mit Paraffin zu durchtränken oder in Paraffinum liquidum (Samassa) überzuführen und darin aufzubewahren. Man verfährt dabei nach den im folgenden Kapitel angegebenen Regeln.

2. Kapitel.

Durchtränkung.

69. Fixierte Objekte besitzen nicht immer die zum Schneiden nötige Konsistenz, manche sind zu zart, als dafs man sie überhaupt mit der Hand anfassen könnte. Man emanzipiert sich daher von der Konsistenz des Objekts,

Digitized by Google

indem man dasselbe mit einem Medium durchtränkt, welches nachher erstarrt. Dann schneidet sich das Ganze wie die Durchtränkungsmasse allein, vorausgesetzt, dafs das Objekt nicht härter als die Durchtränkungsmasse ist. Die gebräuchlichsten Durchtränkungsmassen sind Paraffin und Celloidin.

70. Für die Mehrzahl der bei histologischer und embryologischer Untersuchung verfolgten Zwecke ist Paraffin das geeignetste Durchtränkungsmittel; Paraffin ist unentbehrlich, wenn es sich darum handelt, Serien dünner Schnitte durch kleine Objekte, z. B. Embryonen und Eier, auf Objektträger nach den später zu erörternden Methoden aufzukleben, und durch verschiedene Färbungen und sonstige spezielle Behandlung z. B. für die embryologische Untersuchung und für die Rekonstruktionsmethoden vorzubereiten.

71. Das Durchtränken mit Celloidin ist bei grofsen Stücken (2 cm Seite und darüber) vorzunehmen, aber auch bei kleineren, die aus Geweben verschiedener Konsistenz bestehen oder zu hart sind, um in Paraffin geschnitten zu werden: Epidermis, entkalkter Knochen, dicke Schichten glatter Muskulatur. Für Erforschung der centralen nervösen Organe mit Weigertschen Methoden sowie für einige andere Zwecke ist Celloidin dem Paraffin vorzuziehen. Celloidinschnitte gestatten Färbungen von beiden Seiten ohne vorherige Entfernung des Celloidins. Mit Celloidin durchtränkte Stücke lassen sich nur angefeuchtet und nicht so dünn, wie die mit Paraffin durchtränkten, schneiden.

72. Die **Paraffindurchtränkung** hat so zu geschehen, dafs alle kleinsten Bestandteile des Objekts, also Zellen sammt Kernen, von Paraffin durchdrungen sind in derselben Weise wie vorher von Alkohol.

Würde man nun einfach das Objekt aus dem Alkohol in geschmolzenes Paraffin übertragen und dann das Ganze erstarren lassen, so würde das Paraffin nicht eindringen, da es sich mit Alkohol nicht mischt, das Stück würde nur eingeschmolzen, aber nicht durchschmolzen oder durchtränkt. Man hat daher, ehe man das Objekt ins Paraffin bringt, dasselbe in eine Flüssigkeit zu bringen, welche sich einerseits mit Alkohol, anderseits mit Paraffin mischt.

73. Solcher gibt es eine ganze Reihe, z. B. Toluol, Xylol, Chloroform, dann verschiedene Öle, Terpentinöl,

Digitized by Google

Bergamottöl (ist teuer), Zedernholzöl. Giesbrecht hat Chloroform als wertvolle Zwischenflüssigkeit zuerst empfohlen.

Soweit diese Flüssigkeiten, vor allem Toluol, Xylol, Chloroform (s. § 81) eines für das andere angewandt werden können, sprechen wir der Einfachheit halber, in der Regel nur von Xylol.

74. Es ist zu beachten, dafs sich Xylol mit Wasser fast gar nicht mischt, es darf daher das Objekt nicht aus dem 90 %igen Alkohol in Xylol gebracht werden, sondern es mufs erst wasserfrei gemacht werden durch **absoluten Alkohol.**

Der im Handel käufliche absolute Alkohol ist meist nur 98—99 %ig. Wasserfrei kann derselbe gemacht werden durch Einlegen von pulverisiertem, geröstetem Kupfervitriol in denselben.

Letzterer ist im Handel käuflich und wird in kleine Leinwandsäckchen mit Faden eingebunden oder eingenäht; derartige Kupfervitriolsäckchen legt man in die Gefäfse, in welchen absoluter Alkohol aufbewahrt wird. Diese Gefäfse müssen stets gut verschlossen sein, da der absolute Alkohol auch Wasser aus der Luft aufnimmt.

75. Um das Eindringen der verschiedenen Stoffe zu einem allmählichen und dadurch die Operation zu einer weniger eingreifenden zu machen, bringt man die Objekte aus dem Xylol nicht direkt in reines Paraffin, sondern zunächst in eine **Mischung** von mehr Xylol und weniger Paraffin. Stellt man die Mischung in einen Thermostat (siehe § 82) von 50—60° C., so verdunstet allmählich das Xylol im Verlauf einiger Stunden, so dafs fast reines Paraffin bleibt. Ganz rein wird dasselbe jedoch nicht; es mufs daher das Objekt zum Schlufs noch in **reines Paraffin** auf einige Stunden übertragen werden.

76. Paraffinsorten. Je nach der Temperatur, bei welcher man schneiden will, benutzt man Paraffin von verschiedenen Schmelzpunkten, bei niederer Temperatur zu 50° C., bei höherer zu 60° C.

Man thut gut, mit verschiedenen Paraffinsorten von verschiedenen Schmelzpunkten zu arbeiten und diese zu mischen. Man nimmt als weichste Sorte ein Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt, als härteste ein solches von 55—60° Schmelzpunkt. Je nachdem man von dem einen mehr oder weniger als von dem andern nimmt, erhält man durch Probieren ein Paraffin, das bei der gewünschten Temperatur flüssig wird.

77. Graf Spee (85) empfiehlt überwärmtes Paraffin, namentlich für Bänderschneiden (siehe § 128) zu verwenden. Darstellung: Paraffin von 50° C. Schmelzpunkt wird in einer offenen Porzellanschale über einer Flamme geschmolzen und

Digitized by Google

dann weiter erhitzt, bis es, je nach der Quantität, in ein bis sechs Stunden unter Entwickelung unangenehm riechender weifser Dämpfe, geringer Reduktion seines Volumens und Erhöhung seines Schmelzpunktes um einige Grade eine braungelbe, dem gelben Wachs oder Honig ähnliche Farbe angenommen hat. (Dieses Paraffin erhält man auch durch Grübler in Leipzig.)

78. Die Zeitdauer, welche das zu durchtränkende Stück in den einzelnen Medien zu bleiben hat, richtet sich nach der Gröfse des Stückes. Am längsten mufs es in absolutem Alkohol bleiben, um das Stück ganz wasserfrei zu machen, und in der Mischung Xylol-Paraffin, um ein möglichst vollständiges Verdunsten des Xylols herbeizuführen.

Die Zeit, welche sich für Stücke verschiedener Gröfse als Optimum empfiehlt, ist in Stunden:

	Kleine Objekte unter 1 mm Seite	Mittlere Objekte bis 5 mm Seite	Grofse Objekte über 5 mm Seite	Sehr grofse Objekte
Absol. Alkohol	2	6	24	längere Zeit, aber auf Kosten der Güte.
Xylol . . .	1/2	2—3	3—4	
von jetzt an weiter im Thermostat				
Xylol-Paraffin	1	4	6	
Paraffin . . .	1/2	2	3—4	

Der Aufenthalt im Thermostaten schadet nicht, vorausgesetzt, dafs die Entwässerung eine gute war, und dafs die Objekte nicht allzulange darin verbleiben.

79. Es ist nicht Bedingung, dafs der Prozefs des Durchtränkens zeitlich ununterbrochen verlaufe, man kann z. B. in reines Paraffin gelegte Stücke abends aus dem Thermostaten herausnehmen, um sie morgens wieder hineinzustellen. Dies verdient jedenfalls den Vorzug gegenüber dem Verfahren, dafs die Stücke über Nacht im Thermostat verbleiben und so vielleicht Schaden nehmen könnten.

80. Will man den Vorgang sehr allmählich und gleichmäfsig machen, so kann man, anstatt das Objekt aus Xylol in die Mischung überzuführen, dem Xylol Stücke ungeschmolzenen Paraffins zusetzen. Dieses wird schmelzend sich allmählich dem Xylol beimischen, während das Xylol verdunstet. Sehr zarte Objekte kann man schonend aus dem absoluten Alkohol in Xylol überführen, indem man Xylol zu Alkohol allmählich zusetzt.

81. Selbstverständlich kann man an Stelle des Xylols andere (in § 73 genannte) paraffinlösende Flüssigkeiten verwenden. Besonders geeignet ist hierfür Chloroform. Man

Digitized by Google

bringt das Objekt aus absolutem Alkohol in Chloroform. Zunächst schwimmt hier das Objekt an der Oberfläche, allmählich, indem sich Chloroform an die Stelle des Alkohols setzt, sinkt es zu Boden. Dann wird entsprechend weiter verfahren: Chloroform-Paraffinmischung, reines Paraffin.

82. Als **Thermostat** dienen doppelwandige Kästen, welche vorn eine Glasthüre besitzen. Der Raum zwischen den doppelten Wänden wird mit Wasser oder Glycerin gefüllt. Heizung am besten mit Gas. Zahlreiche Firmen liefern solche Wärmekästen. Ein Regulator vermindert oder vermehrt den Gaszufluſs, wenn die Temperatur, deren Höhe ein ins Innere des Kastens reichender Thermometer anzeigt, von der gewünschten abweicht.

Ein hübscher Apparat, der unter dem Namen »Neapler Wasserbad« zu beziehen ist, ist vielleicht deshalb nicht für alle Zwecke ausreichend, da in demselben die aufgestellten Paraffinnäpfchen etc. nur von unten erwärmt werden.

83. Der **Thermo-Regulator** besteht in einfachster Form aus 2 Glasröhren, welche ineinander geschoben sind, ohne sich zu berühren. Durch die innere, engere Röhre strömt Gas in die weitere, umfassende. Letztere ist oben und unten geschlossen, durch eine seitliche Öffnung strömt das Gas wieder aus zum Brenner.

Die engere Röhre reicht nicht ganz bis zum Boden der weiteren Röhre. Ein Teil der weiteren Röhre ist mit einer Flüssigkeit, z. B. Quecksilber, gefüllt. In dieses taucht man, wenn die gewünschte Temperatur des Ofens erreicht ist, die Spitze der engeren Röhre, welche schief abgeschnitten ist, ein. Steigt die Temperatur, so wird auch die Quecksilbersäule steigen und das Loch allmählich verschlieſsen, so daſs weniger Gas durchströmt. Um bei raschem Steigen und vollständigem Verschluſs der Röhre ein Erlöschen der Flamme zu verhüten, befindet sich oben in der engen Röhre eine kleine Öffnung, welche ein sehr geringes Ausströmen des Gases stets gestattet.

84. Ist so das Objekt mit reinem Paraffin durchtränkt, so wird es in eine Form gegossen, **„eingebettet“**.

Die Form muſs mit Glycerin in dünner Schicht ausgestrichen sein, damit sich der erstarrte Paraffinblock wieder leicht herausnehmen läſst.

Als Form dienen für mittelgrosse Objekte zwei auf eine Glasplatte aufgestellte Winkel. Dies sind unter rechtem Winkel gebogene Metallplatten von Messing oder Schriftmetall, welche, je nachdem sie zusammengestellt werden, eine gröſsere oder kleinere Form geben.

Digitized by Google

Vielfach werden als Form Papierkästchen oder Stanniolkästchen benutzt, wie sie sich jeder leicht selbst anfertigt.

Für sehr kleine Objekte bedient man sich mit Vorteil eines Uhrschälchens als Form; auch können glattrandige Deckel der käuflichen Glasdosen in verschiedenen Gröfsen benutzt werden.

85. Das Verfahren ist folgendes. Nachdem die Form mit der den Boden bildenden Glasplatte gut mit Glycerin ausgestrichen ist, wird ein Spatel (eine Platte mit Stiel, erstere gewöhnlich aus vernickeltem Blech, die besten fertigt man aus Platin) und eine Präpariernadel über der Flamme leicht erwärmt, Paraffin in die Form gegossen und das Objekt mit dem erwärmten Spatel übertragen. Das Objekt wird dann orientiert, d. h. mit der erwärmten Nadel in die Lage gebracht, in der es nacher geschnitten werden soll. Die Orientierung ist für manche Objekte sehr notwendig, da später, wenn das Paraffin erstarrt und undurchsichtig geworden ist, eine solche erschwert, bisweilen unmöglich ist. Ist das Objekt orientiert, so wartet man, bis das Paraffin ein Häutchen bekommt, was man durch Anblasen desselben befördern kann. Dann wird die ganze Form in kaltes Wasser gebracht, um ein möglichst rasches Erstarren von allen Seiten herbeizuführen. Letzteres ist notwendig, da das langsam erstarrte Paraffin nicht so homogen wird und sich nicht so gut schneidet, wie das rasch erstarrte. Nach etwa 30 Minuten langem Liegen in kaltem Wasser sind mittelgrofse Stücke erstarrt und können aus der Form genommen werden.

86. Die Durchtränkung mit Kollodium ist von **Duval** in die mikroskopische Technik eingeführt worden. **Schiefferdecker** (82) hat als Ersatz dafür auf Empfehlung Merkels **Celloidin** eingeführt.

Über Objekte, welche sich besonders für die Celloidindurchtränkung eignen siehe § 71.

87. Die **Celloidindurchtränkung** wird folgendermafsen ausgeführt: Das in Tafeln käufliche Celloidin ist wasserhaltig und liefert deshalb nur schlecht schneidbare Massen; man schneide dieses Celloidin in kleine Stücke und trockne es an der Luft, wobei es hart, gelblich und durchsichtig wird. — Man stelle aus diesen getrockneten Celloidinstückchen 3 Lösungen dar: 1. eine gesättigte in abs. Alkohol-Schwefeläther zu gleichen Teilen (Urlösung), 2. eine Lösung aus gleichen Teilen der Lösung 1 und Alkoholäther und 3. eine Lösung, die aus einem Teil der Lösung 2 und einem gleichen Volumen Alkohol-Äther besteht. — Die

Digitized by Google

zu durchtränkenden Objekte kommen aus dem abs. Alkohol in Alkohol-Schwefeläther zu gleichen Teilen, worin sie etwa 24 Stunden verbleiben, dann kommen sie auf 24 Stunden in die Lösung 3, aus dieser auf ebenso lange Zeit in die Lösung 2 und schliefslich auf 48 Stunden in die Urlösung 1. In dieser Lösung werden die Stücke eingebettet und zwar so, dafs man das Celloidin samt dem Stücke in ein trockenes passendes Gefäfs mit flachem ebenem Boden (z. B. Glasdosendeckel) giefst, luftdicht schliefst (mit Vaseline eingeriebene Glasplatte), damit die Luftblasen entweichen, nach einigen Stunden wird der Deckel entfernt und das Glasgefäss samt dem Präparat unter eine kleine Glasglocke gebracht. Nun bildet sich auf dem Celloidin eine Kruste; nach 6—12 Stunden kann das Ganze vorsichtig in 70 %igen Spiritus gebracht werden; nach 24 Stunden kann das Celloidin vom Glase abgelöst und entweder weiter zum Schneiden behandelt werden oder beliebig lange in 70—80%igen Spiritus aufbewahrt werden, noch besser aber in Glycerin, worin die zugeschnittenen Celloidinstücke ganz durchsichtig werden. — (Die Celloidindurchtränkung haben wir nach Apathy 89 dargestellt).

88. Will man die so eingebetteten Stücke in Schnitte zerlegen, so schneide man zuerst das Celloidin mit den Objekten so zu, dafs die zu schneidende Fläche etwa ein Quadrat darstellt und befestige den Celloidinblock auf einem Kork- oder Holzklotz. — Kork-, resp. Holzklotz, werden in abs. Alkohol gelegt und ebenso die zu befestigende Fläche des Celloidinblockes ein paar Minuten in abs. Alkohol eingetaucht, um die oberflächliche Celloidinschicht aufzuweichen; nun wird das Präparat auf den Träger mit dickem Celloidin 1 (siehe § 87) aufgelegt, vorsichtig angedrückt, damit die Celloidinschicht dünn wird, das hervorquellende Celloidin entfernt und nach einigen Minuten das Ganze in 70 %igen Spiritus getaucht; nach einer Stunde kann geschnitten werden.

89. An Stelle von Celloidin kann man sich auch für manche Zwecke Photoxylins, Krysinski (87), bedienen, welches sich vielleicht etwas weniger gut schneidet, aber durchsichtiger bleiben soll und so die Orientierung beim Schneiden erleichtert.

90. Für die Beurteilung der später einzuschlagenden Operationen (siehe § 136) behalte man im Auge, dafs Celloidin in starkem Alkohol und namentlich in absolutem leicht löslich ist. Sehr viele ätherische Öle, in erster Linie das viel gebrauchte

Digitized by Google

Nelkenöl, lösen Celloidin, dagegen nicht Bergamottöl, Origanum-Öl, Cedernholzöl Neelsen und Schiefferdecker (82).

91. Um die Vorteile, welche Celloidin- und Paraffindurchtränkung bieten, zu vereinigen und womöglich die Fehler beider zu vermeiden, hat man versucht, ein Objekt zunächst mit Celloidin und das so gewonnene Stück nachträglich noch mit Paraffin zu durchtränken. Celloidin-Paraffindurchtränkung. Zu empfehlen für sehr zarte Objekte, für welche bei Paraffindurchtränkung allein in Xylol und Thermostat ein Schrumpfen befürchtet wird.

92. Eine ältere Methode besteht darin, dafs man sich zuerst folgende Lösungen anfertigt:

Eine Mischung gleicher Teile absoluten Alkohols und Äthers: Alkoholäther.

Eine gesättigte Lösung von Celloidin in Alkoholäther: Urlösung.

Aus der Urlösung, welche nicht direkt zum Durchtränken, sondern nur zum Anfertigen der Lösungen gebraucht wird, bereite man sich:

1. Urlösung und zwei Teile Alkoholäther,
2. ein Teil der Lösung 1 verdünnt mit zwei Teilen Alkoholäther,
3. ein Teil der Lösung 2 verdünnt mit zwei Teilen Alkoholäther.

Das Objekt kommt aus 90 %igem Alkohol je 24 Stunden in absoluten Alkohol, dann in Alkoholäther, in Lösung 3, in Lösung 2, schliefslich in Lösung 1; in letzterer wird das Objekt eingebettet (24 Stunden offen oder halb zugedeckt stehen lassen). Die ausgeschnittenen Celloidinplättchen kommen in 70 %igen Alkohol 24 Stunden, dann in 90 %igen 12 Stunden. Darauf bringt man sie in eine Mischung von Origanumöl und $^1/_3$ Volumen 90 %igen Alkohol, dann nur kurze Zeit (einige Stunden) in reines Origanumöl, nun in Origanumöl und $^1/_3$ Volumen Xylol, in reines Xylol, weiter im Thermostat: Xylol-Paraffinmischung, reines Paraffin, Einbetten wie oben (§ 84) Kultschizky (87 a).

93. Die einfachste und die beste Methode für Celloidinparaffin-Durchtränkung ist die von Apathy (96): statt die mit Celloidin durchtränkten Stücke (siehe § 87) zum Härten in 70 %igen Spiritus zu bringen, härtet man in Chloroform und durchtränkt mit Chloroform-Paraffin, Paraffin etc. (siehe § 81).

94. Samassa löst Paraffin und Celloidin in der Wärme (50 ° C.) in gleichen Teilen von Toluol-Alkohol-Äther, (Samassa nimmt statt Schwefeläther Petroleumäther), bringt die Stücke in die Mischung aus Alkohol-Äther; sind die Stücke durchtränkt so bettet man in derselben Masse ein.

Digitized by Google

95. Schema für Durchtränkung.

90%iger Alkohol.

↘ Stückfärbung und Auswaschung

↓

Absoluter Alkohol.

↙	↘
Xylol	Schwefeläther
↓	↓
Xylol-Paraffin	Celloidinlösung Nr. 3
↓	↓
Paraffin	Celloidinlösung Nr. 2
↓	↓
Einbetten	Celloidinlösung Nr. 1
	↓
	Einbetten
	↓
	80%iger Alkohol.

Weitere Literatur zu Kapitel 2: Blochmann (84).

3. Kapitel.

Mikrotom.

96. Um das Schneiden von der geringeren oder gröfseren Geschicklichkeit des einzelnen unabhängig zu machen, wurde eine Reihe von Apparaten konstruiert, welche den Namen **Mikrotom** führen. Diese Apparate, sehr verschieden gebaut, haben das gemeinschaftlich, dafs das Präparat bei gleichstehendem Messer nach jedem Schnitt um so viel gehoben wird, als die Dicke des nächsten Schnittes betragen soll. Dies wird erreicht, z. B. bei dem Jungschen Mikrotom, durch eine schiefe Ebene, auf welcher das Präparat bewegt wird, während das Messer in derselben Ebene bleibt, bei anderen z. B. dadurch, dafs das Präparat direkt durch eine Mikrometerschraube, auf der es befestigt ist, gehoben wird. Bedingung ist nun für das Schneiden, dafs stets nur so viel durch das Messer weggenommen wird, als das Objekt eben gehoben wurde. Dies geschieht bei manchen Mikrotomen dadurch, dafs das durch die Hand

Digitized by Google

geführte Rasiermesser einer festen Unterlage aufliegt, welche verhindert, mehr wegzunehmen, als was eben über diese Unterlage hervorragt. Bei anderen Mikrotomen ist das Messer an einem Blocke befestigt, welch letzterer auf Schienen bewegt werden kann. Das Messer beschreibt so bei jeder Bewegung wieder denselben Weg und nimmt jedesmal das, um was das Objekt gehoben wurde, weg. Die letzteren sind die sogenannten **Schlittenmikrotome.**

Wieder bei anderen Mikrotomen steht das Messer fest, und das Objekt wird durch einen Hebel an demselben vorbeibewegt.

Beschreibung einiger Mikrotome.

97. Das Ranviersche Mikrotom besteht aus einer Platte, über welche ein Rasiermesser mit der Hand weggeführt wird. In der durchbohrten Mitte trägt dieselbe ein Loch, welches in einen Hohlcylinder führt, darin steckt das Objekt. Was über die Platte hervorragt wird abgeschnitten. Die Vorwärtsbewegung des Objektes geschieht durch eine Mikrometerschraube, welche, mit einer Platte versehen, in dem Cylinder steckt und das Objekt schiebt. Dieses Mikrotom genügt nur für die einfachsten Zwecke.

Ein vorzügliches Schlittenmikrotom baut Jung in Heidelberg. Dieses liegt der nun folgenden Beschreibung zu Grunde.

98. Bestandteile des Jungschen von Prof. Thoma verbesserten Rivet-Brandtschen **Mikrotoms.**

Das Stativ desselben ist aus vier Metallplatten zusammengesetzt. Die erste liegt als Fuſs auf dem Tisch, senkrecht zu derselben ist auf derselben eine zweite befestigt. An den beiden Seiten der senkrechten verläuft je eine Platte unter einem nach oben offenen spitzen Winkel. In diesen beiden Winkeln kann jederseits ein schwerer metallener Keil eingesetzt werden. Diese füllen den Winkel genau aus und können auf an den Platten befindlichen Schienen verschoben werden. Die Keile laufen, um die Reibung zu vermindern, auf Metallknöpfen oder Elfenbeinfüſschen. Diese Keile werden Schlitten genannt. Rechts befindet sich der das Messer tragende Schlitten, der **Messerschlitten,** links der das Objekt tragende **Objektschlitten.**

99. Das Messer wird am **Messerschlitten** in zum Tisch wagrechter Richtung durch eine Schraube befestigt.

Die neueren Messerschlitten tragen meist mehrere Bohrungen zur beliebigen Befestigung des Messers.

Digitized by Google

100. Zu empfehlen sind Messerhalter, welche in die Schraube eingespannt werden können. Das Messer kann im Messerhalter in verschiedenen Stellungen durch Klemmschrauben befestigt, und dadurch die ganze Länge der Schneide ausgenutzt werden. Es ist dann möglich, wenn eine Stelle des Messers nicht mehr gut schneidet, dasselbe zu verschieben.

101. Die älteren Messer, welche ohne Messerhalter befestigt werden sollen, besitzen an ihrem Ende einen Griff, in welchen die Halteschraube paſst.

102. Der Objektschlitten trägt den Objekthalter. Der Objekthalter ist eine Klammer, welche an einem Stift durch die Halteschraube höher oder tiefer gestellt werden kann. In dieser Klammer wird das Objekt, resp. der Kork oder Holzklotz, auf welchem dasselbe aufgeklebt ist, durch eine Schraube befestigt, »eingespannt«.

103. An Stelle der eine Klammer tragenden Objektschlitten wurden solche konstruiert, welche eine Drehung des Objekts nach allen Seiten und Feststellung desselben in einer beliebigen Lage gestatten: Orientierungsapparate. Ein solcher ist für feinere, speziell embryologische Untersuchungen unentbehrlich.

Der Orientierungsapparat des Jungschen Mikrotoms besteht aus zwei ineinander befindlichen Rahmen, welche um zwei aufeinander senkrecht stehende Achsen durch Schrauben bewegt, durch Triebbewegung (nach L. Koch) vertikal verstellt und in jeder beliebigen Stellung festgestellt werden können.

Im inneren Rahmen kann ein Cylinder festgestellt werden, auf welchen das Objekt aufgeschmolzen wird. Der Cylinder, mit ihm das Objekt, kann gehoben oder gesenkt werden, auch ist er um seine Längsachse drehbar.

104. Wird nun der Messerschlitten bei ruhigstehendem Objektschlitten durch die Bahn geführt, so wird er ein über Messerhöhe hervorragendes Stück des Objekts abschneiden. Nun wird der Messerschlitten zurückgeschoben. Die Bahn des Messerschlittens ist überall in gleicher Höhe vom Tisch entfernt. Die Bahn des Objektschlittens steigt dagegen allmählich an: wird daher der Objektschlitten etwas vorwärts geschoben, so steht das Objekt etwas höher, es wird demnach, wenn der Messerschlitten wieder durch die Bahn bewegt wird, ein Schnitt abgeschnitten u. s. f.

Eine einfache Überlegung zeigt sofort, daſs der vielleicht auftauchende Gedanke, es könnte sich hier nicht um plattenförmige Schnitte, sondern um keilförmige handeln, unrichtig ist:

105. Die Bewegung des Objektschlittens erfolgt durch eine Mikrometerschraube, welche ein eigener Schlitten,

Digitized by Google

der Mikrometerschraubenschlitten, führt. Dieser Schlitten befindet sich in der Objektschlittenbahn und wird dem Objektschlitten näher geschoben, bis die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt. Die Spitze der Mikrometerschraube ruht dann auf einer eigenen Platte des Objektschlittens. Dann wird der die Mikrometerschraube tragende Schlitten mittels einer Halteschraube befestigt.

Wird nun die Mikrometerschraube um ein bestimmtes gedreht — wie weit, kann an einer an derselben befindlichen Trommel abgelesen werden —, so wird der Objektschlitten um ein bestimmtes vorgeschoben, das Objekt um ein bestimmtes gehoben, und aus der Gröfse der Drehung der Mikrometerschraube ergibt sich nach ihrem, für jedes Mikrotom bestimmten Umdrehungswert die Schnittdicke. Diese beträgt für das Jungsche Mikrotom für eine Umdrehung der Mikrometerschraube 15 μ.

106. Diese Mikrometerschraube hat, wie aus dem Angeführten hervorgeht, eine andere Bedeutung, als die Mikrometerschraube, wie sie bei anderen Mikrotomen (z. B. § 112) angewandt wird, indem letztere das Objekt direkt hebt.

107. Eine Skala mit Nonius, an der abgelesen werden kann, wie weit der Objektschlitten vorgeschoben wurde, und nach der unter Berücksichtigung der Steigung der Bahn die Schnittdicke berechnet werden kann, bleibt an den neueren Jungschen Mikrotomen weg.

108. Für die Mikrotome wurden besondere Messer konstruiert von Keilform. Die über das Präparat weggleitende Seite des Messers ist eben geschliffen, die obere hohl.

109. Beim Abziehen, wozu besonders konstruierte Riemen geliefert werden, lege man die Hohlseite des Messers ganz auf, dasselbe berührt dann mit Schneide und Rückenkante den Riemen.

Die Messer sind nicht wie die Mikrotome durch Ölen (siehe § 115) vor dem Rosten zu schützen, vielmehr bediene man sich dazu des Paraffins. Mit einem Stück reinen Paraffins reibt man die ganze Fläche des Messers ein.

Um das Rosten zu verhüten, halte man die Messer in Etuis und bewahre sie wie die Mikrotome vor Berührung mit Säuren und Feuchtigkeit.

Nebenapparate des Jungschen Mikrotoms:

110. Gefrierapparat. Derselbe wird am Jungschen Mikrotom am Objektschlitten befestigt in ähnlicher Weise, wie der Objekthalter und an Stelle desselben. Er besteht aus einer Platte von Metall, auf welche das Objekt gelegt wird; gegen ihre Unterseite wird durch ein Gebläse Äther zerstäubt.

Digitized by Google

Hierdurch wird die Platte stark abgekühlt, und das Objekt friert an. Ist dasselbe fest gefroren, so wird in der gewöhnlichen Weise geschnitten.

Nach Benutzung des Gefrierapparates ist eine besonders genaue Reinigung und Ölung des Mikrotoms erforderlich, um Rosten desselben zu verhüten.

Es empfiehlt sich, beim Schneiden viel Flüssigkeit, z. B. $^1/_3$%ige wässerige Chromsäure oder physiologische Kochsalzlösung, auf das Messer (nicht auf das Objekt) zu bringen, in welcher dann der Schnitt schwimmt. Dadurch wird das Aufrollen desselben leicht verhindert.

111. Um den Druck der Hand bei Führung des Messerschlittens auszuschalten, wird an demselben ein tischwärts ragender Zapfen angebracht.

112. Das **Schanzesche** (Rivet-Weigertsche) Mikrotom besteht aus einem Messerschlitten, ähnlich dem beim Jungschen beschriebenen. Die Hebung des Objektes geschieht in ähnlicher Weise, wie beim Ranvierschen, durch eine Mikrometerschraube mit geteilter Scheibe zum Ablesen. Dieses Mikrotom wird jetzt noch mit einer Reihe von Neuerungen angefertigt, z. B. einem Orientierungsapparat, einer Tauchwanne für Nafsschneiden.

Auch werden bei derartigen Instrumenten die Schienen aus Glas hergestellt, sie können bei Beschädigung weggenommen und durch andere ersetzt werden. Vorzügliche derartige Instrumente liefert Becker in Göttingen.

113. Weitere, z. B. die kleinen **automatischen Mikrotome** und das grofse Reinhold-Giltaysche Mikrotom sind Systeme, welche sich bei uns noch nicht so eingebürgert haben, wie die Schlittenmikrotome. Über automatische Mikrotome vergl. Minot (97).

114. Für spezielle Zwecke, z. B. Schnitte durch das ganze Gehirn, sind eigene Mikrotome konstruiert worden.

Schneiden mit dem Jungschen Mikrotom.

115. Ölen. Die Schienen der Schlittenbahnen des Mikrotoms werden vor dem Gebrauch gesäubert und mittels eines Pinsels mit einer dicken Ölschicht überzogen. Es empfiehlt sich hierfür:

4 Teile Knochenöl auf
1 Teil Petroleum.

Die Prozedur des Ölens erfordert eine besondere Sorgfalt, da sie die Vorbedingung des ruhigen Ganges des Schlittens ist. Geht der Schlitten schwer, was bald, stets

Digitized by Google

nach 24 Stunden der Fall ist, besonders, wenn man das Mikrotom nicht vor Staub schützt, indem man es z. B. mit einem Glassturz bedeckt, so darf nicht sofort neues Öl aufgetragen werden, sondern es müssen sorgfältig die Schienen der Schlittenbahnen mit einem Tuche gereinigt werden, dann erst ist frisches Öl aufzutragen.

Die Ölschicht mufs eine dicke sein, so dafs der Messerschlitten, dessen Bahn beim Ölen besonders zu berücksichtigen ist, leicht mit dem Finger angestofsen, von selbst durch die Bahn läuft.

Laufen die Schlitten auf Glasschienen (siehe § 112), so wird nicht geölt.

116. Einspannen des Objekts. Das in Paraffin eingebettete Objekt (siehe § 85) wird mit einem Messer als Würfel ausgeschnitten, dann schneidet man von 5 Seiten des Stücks möglichst viel überflüssiges Paraffin weg. Mit der sechsten Seite wird das Stück auf ein in die Klammer des Objektschlittens passendes Stück harten Paraffins, Kork oder Holz aufgeschmolzen. Letzteres geschieht in der Weise, dafs man mittels eines an der Flamme erhitzten Drahtes das Paraffin schmilzt und dann das Stück rasch auflegt. Etwaige Unregelmässigkeiten werden noch mit dem heifsen Draht geebnet und das Stück für zehn Minuten in kaltes Wasser gebracht.

117. Fixierte Stücke können auch undurchtränkt, jedoch feucht geschnitten werden, vorausgesetzt, dafs sie hierfür hart genug sind. Dieselben werden auf einem Kork oder Holzstück mittels Gummileim befestigt. Stück und Block werden einige Zeit mit der Hand zusammengehalten und kommen dann, um den Gummi zum Erstarren zu bringen, in Alkohol.

Nun wird das Ganze in den Objekthalter fest eingeschraubt, eingespannt.

118. Am Messerschlitten wird das Messer so befestigt, dafs seine Längsachse einen spitzen Winkel zu der Längsachse des Mikrotoms bildet.

119. Alle Schrauben müssen fest angezogen werden, so dafs Objekt und Messer unbeweglich mit ihren Schlitten verbunden sind.

120. Jetzt wird das Objekt so weit gehoben, dafs die nach oben gerichtete Seite desselben möglichst genau die Höhe des Messers hat. Das Messer wird versuchsweise über das Objekt weggeführt, eventuell der Objektschlitten noch wenig verschoben, bis das Messer fafst.

Digitized by Google

121. Grundregel ist: Niemals dürfen dicke Scheiben mit dem Mikrotommesser abgeschnitten werden. Will man z. B. einen Teil des durchtränkten Stückes entfernen, um aus der Mitte des Stückes Schnitte zu bekommen, so geschieht dies entweder mit einem gewöhnlichen scharfen Messer, oder man schneidet mitteldicke Scheiben allmählich mit dem Mikrotommesser ab, indem man den Objektschlitten jedesmal höchstens um Bruchteile eines Millimeters verschiebt und abschneidet, so lange, bis man das Gewünschte entfernt hat.

Ist so in richtiger Schnitthöhe eingestellt, so wird mit einem Messer von den Rändern des Paraffinblocks Paraffin abgeschnitten, so dafs die Schnittfläche des Objekts eine möglichst kleine ist. Es empfiehlt sich hierbei, wenn man mit schief gestelltem Messer schneidet, den Block so zuzuschneiden, dafs die Schnittfläche gegen das Messer eine Spitze bildet; es greift dann das Messer leichter an, doch ist dies unwesentlich. Dann wird der Schlitten mit der Mikrometerschraube an den Objektschlitten so angenähert, dafs die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt, und der Schlitten wird mit der Halteschraube befestigt. Das Schneiden kann beginnen.

122. Beim **Schneiden** führt die rechte Hand den Messerschlitten, indem sie denselben mit zwei Fingern an der dem Schneidenden zugekehrten und der entgegengesetzten Seite anfafst. Niemals darf von oben aufgedrückt werden, da sonst die zwischen Schlitten und Schlittenbahn befindliche Ölschicht verdrängt wird und Schneiden und Schnitt unregelmäfsig werden. Die linke Hand führt einen Pinsel, um den Schnitt während des Schneidens zu verhindern, sich aufzurollen.

123. Es sind auch sogenannte Schnittstrecker (Born, 93) konstruiert worden; dieselben sind jedoch entbehrlich.

124. Zunächst wird die Mikrometerschraube gedreht, und zwar für den Anfang in der Regel zur Erzielung einer Schnittdicke von 15 μ, bei Jung eine Umdrehung, später 10 μ und weniger, d. h. es wird die Schraube nur zu zwei Drittel und weniger gedreht, was an der Trommel abgelesen werden kann.

Dann wird der Messerschlitten langsam durch die Bahn geführt, indem, sowie das Messer fafst, mit dem Pinsel der Schnitt gehalten wird, ehe er sich zu rollen beginnt.

Die Pinselführung macht im Anfang viel Schwierigkeit Einmal sollen die Pinselhaare nicht mitgeschnitten werden,

Digitized by Google

dann mufs der Schnitt während des Schneidens frei in der Luft gehalten werden, ohne mit dem Pinsel aufs Messer aufgedrückt zu werden. Doch ist die erforderliche Übung bald erreicht.

125. Ist so der Schnitt gelungen, so wird derselbe mit einem oder zwei Pinseln oder auch vermittelst einer Nadel oder eines spitz ausgezogenen Glasstäbchens weggenommen, um weiter behandelt zu werden. Dann wird der Messerschlitten zurückgeführt, und zwar durch die ganze Bahn.

Der Messerschlitten mufs stets deshalb durch die ganze Bahn geführt werden, damit eine gleichmäfsige Abnützung derselben erzielt wird.

126. Hat man eine Zeitlang geschnitten, so wird die Mikrometerschraube ihre ganze Bahn durchlaufen haben, sie mufs dann zurückgedreht werden. Dabei ist zu beobachten, dafs die zurückgedrehte Mikrometerschraube den Messerschlitten nicht mehr berührt. Es mufs demnach die Halteschraube des Mikrometerschraubenschlittens gelöst, derselbe in der früher angegebenen Weise vorsichtig an den Objektschlitten angeschoben und dann wieder festgeschraubt werden. Der Objektschlitten darf während der ganzen Operation nicht bewegt werden. Ist dies aus Unvorsichtigkeit doch geschehen, so mufs das Objekt vorsichtig wieder in Schnitthöhe gebracht werden, wie es in § 120 angegeben wurde.

127. Oben ist angegeben, dafs die Messerstellung eine schiefe sein soll; dies ist besonders nötig, wenn ein Objekt schwer zu schneiden ist. Es hat dies den Zweck, dafs die Wirkung des Messers mehr auf Zug als auf Druck beruhe, was das Schneiden erleichtert (siehe § 6).

128. Bisweilen empfiehlt es sich auch, das Messer quer zur Längsachse der Bahnen zu stellen. Dadurch wird das sogenannte Bänderschneiden ermöglicht. Hierbei wird der Schnitt nicht vom Messer weggenommen, er bleibt an der Schneide kleben, und beim Schneiden wird er Rand an Rand mit dem nun folgenden Schnitt innig verbunden. So kann man eine ganze Reihe von Schnitten aneinander kleben lassen. Bänderschneiden ist nur möglich bei kleinen Objekten, nicht zu dicken Schnitten, bei einer bestimmten Paraffinsorte und bei geeigneter Temperatur. Das Bänderschneiden gestattet ein rasches Arbeiten. Nötig ist es, die Oberfläche des das Objekt einschliefsenden Paraffinblocks (am besten quadratisch) so zuzuschneiden, dafs die der Messerschneide und die dem Schneidenden zugekehrte Seite beide der Messerschneide parallel sind.

Digitized by Google

129. Um bei hoher Zimmertemperatur das Schneiden von Paraffin auch von verhältnismäfsig niedrigem Schmelzpunkt zu ermöglichen, kann man sogenannte Kühlmesser benützen (Stofs, 91). Solche Messer (welche Katsch in München liefert) sind nahe dem Rücken der Länge nach durchbohrt; durch die so gebildete Röhre im Messer wird ein Eiswasserstrom durchgeleitet. Wenn das Paraffin infolge zu hoher Zimmertemperatur zu weich wird, kann man sich auch dadurch helfen, dafs man das eingespannte Paraffinstück mit einem mit Äther getränkten Stückchen Watte umwickelt.

130. Um sehr dünne Schnitte zu gewinnen, empfiehlt es sich, vor jedem Schnitt die Schnittfläche mit einer 1%igen in Alkoholäther gelösten Celloidinlösung (auch Paraffin) zu überstreichen, dies erstarren zu lassen und dann zu schneiden.

Das bisher geschilderte Schneiden bezieht sich auf mit Paraffin durchtränkte Stücke, welche trocken geschnitten werden.

131. Mit Celloidin durchtränkte Schnitte werden feucht geschnitten, d. h. es mufs vor jedem Schnitt das Stück und das Messer mittels eines Pinsels mit 70 bis 80%igem Spiritus befeuchtet werden. Man schneidet mit schräg gestelltem Messer und mit raschen Zügen.

Nach dem Feuchtschneiden bedarf das Mikrotom einer besonderen Reinigung, um das Rosten zu verhüten.

4. Kapitel.

Weiterbehandlung des Schnittes.

132. Die Weiterbehandlung des Schnittes richtet sich nach dem Medium, mit welchem derselbe durchtränkt war. Paraffinschnitte müssen zunächst von dem darin befindlichen Paraffin befreit werden. An Schnitten von Objekten, welche auf keine Weise gefärbt sind, sieht man auch an den dünnsten nur wenig. Ungefärbte Schnitte müssen daher gefärbt werden, Schnittfärbung, wenn nicht Stückfärbung vorausgegangen ist. Dann können dieselben zur Aufbewahrung eingeschlossen werden.

Es hat sich als praktisch herausgestellt, grofse, leicht zerfallende Schnitte, z. B. Drüsen, ebenso zarte Objekte oder Serien, welche geordnet bleiben sollen, vor diesen Manipulationen auf den Objektträger zu befestigen. — »Aufkleben.« Dies bietet u. a. den Vorteil, dafs man eine grofse Anzahl von Schnitten zugleich und daher rascher und gleichmäfsiger behandeln kann. Unerläfslich ist das Aufkleben, wenn es sich um Anfertigung sogenannter

Digitized by Google

Schnittserien, z. B. für embryologische Untersuchungen oder für die Rekonstruktionsmethoden (siehe diese), handelt. Man hat beim Serienschneiden darauf zu achten, dafs kein Schnitt verloren geht; ist dies doch geschehen, so ist dies sofort zu notieren (etwa so, dafs man in den Serienkatalog einschreibt: Serie 1, Objektträger 2, Schnitt 3 fehlt). Über die Bezeichnung der Objektträger siehe § 139. Die Weiterbehandlung von Paraffinschnitten, welche aufgeklebt werden sollen, ordnet sich folgendermafsen: Aufkleben, Paraffinbefreiung, Schnittfärbung, Einschlufs (siehe die nächsten Kapitel).

133. Hier soll nur die **Weiterbehandlung nichtaufgeklebter Paraffinschnitte und Celloidinschnitte** (für letztere sind Aufklebemethoden [s. § 148 ff.] noch nicht in der vollendeten Weise wie für erstere bekannt) geschildert werden. Die Weiterbehandlung nicht aufgeklebter Schnitte ist gut einzuüben, da dieselbe in der pathologisch-anatomischen Technik eine grofse Rolle spielt.

134. **Paraffinschnitte** werden vom Mikrotom mit Pinsel, resp. mit einer Nadel direkt in ein flaches Schälchen, enthaltend eine der oben angegebenen (s. § 73) Flüssigkeiten, gebracht, in denen sich Paraffin löst, z. B. Xylol. Im Xylol müssen die Schnitte mindestens so lange verweilen, bis sich Paraffin löst, was man mit blofsem Auge sehen kann. Ist das Schneiden beendigt, so können die Schnitte zusammen weiter behandelt werden. Aus dem Xylol können die Schnitte direkt eingeschlossen werden, vorausgesetzt, dafs die Einschlufsmasse dies gestattet, also z. B. nicht wasserhaltig ist, sondern z. B. in Xylol gelöster Kanadabalsam. Man verfahre dann nach § 157. Beim Übertragen des Schnittes benutze man Spatel und Nadel und sorge, dafs der Schnitt sowohl auf dem Spatel wie auf dem Objektträger glatt liegt. Sollen die Schnitte vor dem Einschlufs gefärbt werden, so übertrage man die Schnitte aus dem Xylol mit Spatel und Nadel in ein Schälchen mit absolutem Alkohol und beginne dann zunächst mit der Färbung, z. B. der Hämalaunfärbung, wie dieselbe in § 178 geschildert wird. Danach färbe man weitere Schnitte nach in Kapitel 8 angegebenen Methoden. Endlich schliefse man die gefärbten Schnitte nach Kapitel 7 ein.

135. Es können aber auch die Schnitte jetzt schon vor dem Einschlufs direkt untersucht werden, was unter Umständen vorteilhaft ist, namentlich wenn man dieselben

Digitized by Google

aus dem Xylol in Flüssigkeiten von verschiedenem Lichtbrechungsvermögen überträgt und darin auf den Objektträger bringt und untersucht. Häufig bedient man sich hierzu des Nelkenöls (besitzt ein starkes Lichtbrechungsvermögen), in welches die Schnitte aus dem Xylol direkt übertragen werden können. Will man in Glycerin untersuchen (siehe auch § 160), kommen die Schnitte aus dem Xylol in absoluten Alkohol, von da in 90%igen, 70%igen Alkohol, in destilliertes Wasser, in zu zwei Drittel, dann zur Hälfte mit Wasser verdünntes Glycerin je etwa eine Minute, endlich in reines Glycerin.

136. Die **Celloidinschnitte** dürfen nicht mit absolutem Alkohol in Berührung kommen, falls man Celloidin erhalten haben will. Sie werden also, nachdem sie geschnitten sind, zunächst in ein Schälchen mit 70—80%igem Alkohol gebracht. Die Schnitte können gefärbt (aufser in wenigen Farben, die in absolutem Alkohol gelöst sind), ausgewaschen u. s. w., mit 95%igem Spiritus behandelt (1—3 Minuten, je nach der Dicke des Schnittes) und in Origanumöl, Cedernholzöl z. B., nicht aber in Nelkenöl, welches Celloidin lösen würde, aufgehellt werden. Nach Entfernung des Öles (etwa mit Xylol) erfolgt Einschlufs in Canadabalsam (s. § 157).

137. Als Aufhellungsmittel für Celloidin wurde zuerst von Hauptmann Urban die konzentrierte Karbolsäure vorgeschlagen. Dies wurde von Weigert mit Erfolg in der Weise modifiziert, dafs er auf ein Volumen Karbol drei Volumina Xylol nimmt, und um das Ganze wasserfrei zu erhalten, verfährt er wie beim absoluten Alkohol (s. § 74.)

5. Kapitel.

Aufkleben.

138. Es ist zweckmäfsig, schon der Raum- und Zeitersparnis halber, aber namentlich um die Schnitte während der Behandlung vor mechanischen Angriffen möglichst zu schützen, dieselben auf den Objektträger aufzukleben.

Auf das Deckgläschen aufzukleben, empfiehlt sich weniger, da dies die Aufklebeoperation wie die Nachbehandlung erschwert.

139. Man gewöhne sich von Anfang an, die Schnitte in Reih' und Glied, wie Buchstaben und Zeilen im Buche, aufzulegen. — Um die Reihenfolge der Objektträger und eine bestimmte Folge der darauf aufgeklebten Schnitte sich zu merken (was z. B. für Serienschnitte unumgänglich notwendig ist), pflegt man dieselben mit aufeinander folgenden

Digitized by Google

Zeichen, Nummern oder Buchstaben zu markieren. Dazu bediene man sich am zweckmäfsigsten eines Schreibdiamanten. Bezeichnet wird stets an derselben Stelle des Objektträgers, z. B. in der Ecke rechts unten. — Empfehlenswert ist auch die käufliche Glastinte, mit welcher man am besten eine grofse Anzahl von Objektträgern vor Benützung numeriert.

Die sonst üblichen Mittel zur Bezeichnung der Objektträger, wie Tinte, Ölstifte u. s. w., sind nicht zu empfehlen, da sie leicht und namentlich bei eventueller Weiterbehandlung verschwinden.

140. Je nach der Wahl der Masse, welche zum Aufkleben verwendet wird, richtet sich die nachfolgende Behandlung der aufgeklebten Schnitte. Ist die klebende Masse in Wasser, Alkohol, ätherischen Ölen u. s. f. unlöslich, so ist selbstverständlich auch die Färbung der bereits aufgeklebten Schnitte nicht ausgeschlossen.

Man kann aufkleben Paraffinschnitte, auch Paraffincelloidinschnitte mit Wasser (sehr schwachem Spiritus), Eiweifs; weniger gebräuchlich sind Schellack, Kollodium; Celloidinschnitte nach dem Verfahren von Weigert, Obregia, Apathy und Argutinsky.

141. Aufkleben mit Wasser (nur im Notfall, wenn die Objektträger absolut nicht benetzt werden, mit sehr schwachem Spiritus) ist die einfachste Methode, die aber einer gewissen Vorsicht bedarf und deshalb in den Händen der Anfänger nicht immer dasjenige leistet, was sie leisten soll; sie ist von Gaule (81), Altmann, (Spiritus) und Gulland (91) (Wasser) empfohlen.

Die Fixierung der Schnitte beruht in diesem Falle auf einer Kapillar-Attraktion.

Mit Osmiumsäure und Osmiumsäuregemischen fixierte Objekte lassen sich nur unsicher oder nicht mit Wasser aufkleben.

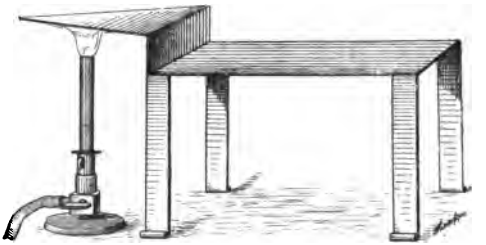
Sehr sorgfältig gereinigte Objektträger werden mit destilliertem Wasser oder sehr verdünntem Spiritus gleichmäfsig benetzt. Man breite nun die Paraffinschnitte auf der Wasser- resp. Spiritusschicht aus. Dann erwärme man (falls die Schnitte sich noch nicht ausgebreitet haben) den Objektträger leicht, wobei sich die Schnitte glatt legen (Paraffin darf nicht schmelzen), entferne mit Filtrierpapier die überschüssige Flüssigkeit, ordne die Schnitte definitiv, etwa mit einem Pinsel, und lasse die Schnitte, die gut vor Staub geschützt werden müssen, 24 Stunden lang eventuell

Digitized by Google

im Thermostat bei 35° C. trocknen. (Thermostat bei trockener Witterung nicht unbedingt nötig.) Die so getrockneten Schnitte können bei einer gewissen Vorsicht allen möglichen Behandlungen unterzogen werden.

Man kann so fixierte Schnitte, sagt Altmann, sogar künstlich verdauen, ohne dafs die unveränderten Teile des Schnittes ihre Lage zum Objektträger im geringsten wechseln.

142. Mit Vorteil legt man die Objektträger mit den auf Wasser ausgebreiteten Schnitten auf einfache Wärmtische von Metall (Born, 88), siehe Fig. 1, deren Tischplatte, gewöhnlich aus Messing angefertigt, am einen Ende aufgebogen ist; eine unter den aufgebogenen Arm des Tisches gestellte Lampe läfst die Temperatur des Tisches und damit des daraufgelegten Objektträgers beliebig regulieren. Die Schnitte legen sich, ehe das Paraffin zum Schmelzen kommt (was vermieden werden soll), ganz glatt. Zum Ordnen bediene man sich eines zugespitzten Holzstäbchens; dann verfährt man weiter, wie angegeben.



Figur 1. Wärmtischchen nach G. Born.

143. Handelt es sich nicht um Serien, so kann man Paraffinschnitte direkt vom Mikrotom in eine Schale mit lauwarmem Wasser übertragen; hier legen sie sich glatt. Man fängt dieselben später direkt mit dem Objektträger aus dem Wasser auf und läfst sie auftrocknen.

144. P. Mayer (96) empfiehlt, die Schnitte statt mit Wasser oder schwachem Alkohol mit der Farblösung selber aufzukleben. Dabei wirkt der Farbstoff, wenn man die Schnitte, um sie sich dehnen zu lassen, in die Wärme bringt, meist ebenso rasch wie energisch, und so lassen sich Färbungen erzielen, die sonst nicht leicht zustande kommen. Man mufs nur dafür Sorge tragen, dafs die Schnitte auf der Farblösung anfänglich schwimmen, dafs diese später gut mit Wasser abgespült wird, und dafs die Schnitte wirklich ganz trocken sind, bevor man sie in Xylol (zum Entfernen des Paraffins) und von da in Balsam überträgt.

Digitized by Google

145. Wegen der Raschheit des Verfahrens noch jetzt beliebt ist das von P. Mayer (83) eingeführte **Aufkleben mit Eiweifs.** Möglichst frische Hühnereier, etwa 3 Stück, werden aufgeschlagen, das Eiweifs in eine Schüssel abgelassen, wobei man sorgfältigst die Verletzung der Dotterhaut des Eigelbs zu vermeiden hat. Es wird einige Zeit mit einem Holzstabe geschlagen und durch Filtrierpapier filtriert. Da Eiweifs sich ziemlich rasch zersetzt, so ist das Hinzufügen eines Kampferstückchens zu der filtrierenden Flüssigkeit sowohl, als zu dem Filtrat sofort anzuraten. Eiweifs filtriert sehr langsam, man erhält aber doch nach 12 Stunden ein paar Cubikcentimeter Eiweifs. Zu diesem füge man ebensoviel des chemisch reinen Glycerins, dann ebenfalls ein kleines Stückchen Kampfer oder Natriumsalicylat hinzu und bewahre das Ganze in einem gut vor Staub geschützten Gefäfs. Nachdem sich Glycerin mit Eiweifs gemischt hat, was man durch Schütteln beschleunigen kann, ist es zum Gebrauche fertig. Beschleunigen kann man das Filtrieren auch, wenn man Eiweifs und Glycerin zu gleichen Teilen vor dem Filtrieren mischt; es mufs dann noch einige Zeit mit dem Stab geschlagen werden, ehe es filtriert wird.

Es wird auf einem gut gereinigten Objektträger etwa mit einem feinen Pinsel eine möglichst dünne Schicht des Eiweifses aufgetragen und mit reiner Fingerbeere oder einem Glasstabe geglättet. Auf diese so präparierte Fläche werden die Paraffinschnitte gelegt und eventuelle Falten, die aber nicht zahlreich sein dürfen, mit einem breiten Pinsel ausgeglichen und so aufgedrückt, dafs sich keine Luftblasen zwischen Schnitt und Eiweifs befinden. Dabei liegt der Objektträger auf dem Tisch.

Will man einen vorgeschriebenen Raum, etwa die Gröfse eines Deckglases, vollkommen ausnützen, so kann man denselben auf einem Stück Papier mit Bleistift oder ähnlichem vorzeichnen und den Objektträger in passender Lage darauflegen.

Ist eine gewünschte Menge Schnitte auf der so präparierten Eiweifsfläche sortiert und aufgedrückt, so erwärme man das Ganze bis auf die Koagulationstemperatur des Eiweifses, etwa 70° C.

Dies geschieht, indem man den Objektträger kurze Zeit über einer kleinen Spiritus- oder Gasflamme erhitzt, bis derselbe heifs geworden ist. Diese Methode gestattet ein rasches Arbeiten, ist jedoch mit Vorsicht anzuwenden, da das Präparat leicht durch zu starke Erhitzung beschädigt werden kann.

Digitized by Google

Die Schnitte kleben nun so fest, dafs z. B. fliefsendes Wasser dieselben nicht wegschwemmt; es können damit alle folgenden Operationen, wie sie im weiteren angegeben werden, vorgenommen werden.

Bestimmten Reagentien dürfen jedoch mit Eiweifs aufgeklebte Schnitte nicht ausgesezt werden, und zwar derartigen, welche Eiweifs lösen und dadurch die Schnitte ablösen würden. Solche sind starke Säuren und Alkalien.

Man könnte also beispielsweise mit Borax-Karmin 12 bis 24 Stunden färben, ebenso lange mit einem $^1/_2$ % Salzsäure enthaltenden Spiritus ausziehen, mit Spiritus waschen, mit absolutem Alkohol entwässern und einschliefsen. Man würde aber beispielsweise den übrigens nur für sehr spezielle Zweçke brauchbaren Karmin von Schneider (Karmin bis zur Sättigung gelöst in einer 45 %igen Essigsäure) selbstredend aus angedeuteten Gründen (wegen der dabei mitwirkenden Essigsäure) zu vermeiden haben.

Ferner sind es bestimmte Farben, welche Eiweifs ablösen, z. B. Pikro-Karmin; andere nur in stärkeren Lösungen, z. B. Benzo-Azurin.

146. Henneguy, auch Reinke (95), beschickt Objektträger, Deckgläser oder Glimmerplatten mit sehr wenig Eiweifsglycerin und verstreicht dasselbe mit der Fingerbeere, bis scheinbar kaum eine Spur mehr vom Eiweifs vorhanden ist. Dann Erwärmen der Platten im Thermostat bei 70° (besser als über der Flamme), um das Eiweifs zu koagulieren. Diese Platten werden mit reichlichem Wasser beschickt, dann vorsichtiges Erwärmen, bis sich die Schnitte faltenlos ausgebreitet haben (Paraffin darf nicht schmelzen). Dann Trocknen im Thermostat bei 30—35° C., einige Stunden genügen in der Regel.

147. Die in Celloidin-Paraffin eingebettet gewesenen Schnitte können wie Paraffinschnitte mit Wasser aufgeklebt werden. Es empfiehlt sich jedoch (Apathy), die Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten in $^1/_2$%ige Celloidinlösung in Alkohol-Äthyläther (3 : 1) einzutauchen. Sind dieselben getrocknet, so können sie in gewöhnlicher Weise weiter behandelt werden.

148. Schnitte, mit Celloidin eingebetteten Objekten entnommen, welche, wie im § 131 angegeben wurde, feucht geschnitten werden, können in der bisher angegebenen Weise nicht aufgeklebt werden.

Eine von Weigert (85) (speziell für das Centralnervensystem) ausgearbeitete Methode läfst jedoch auch hier die **Behandlung vieler Schnitte auf einmal zu.**

Digitized by Google

Die Schnitte werden mit ungeleimtem Papier (sogenanntem Klosettpapier) in einer bestimmten Reihenfolge aufgefangen, indem man das Papier auf die auf dem Messer befindlichen Schnitte legt; sie bleiben daran haften, und das Papier kann behutsam mit dem Schnitt abgenommen werden. Damit der Papierstreifen samt den Schnitten nicht trocknet, legt man ihn, während man den nächsten Schnitt anfertigt, auf eine mit 70%igem Alkohol befeuchtete Lage von Fliefspapier; mit dem nächsten Schnitt wird in derselben Weise verfahren, bis man eine gewisse Anzahl von Schnitten in einer gewünschten Reihenfoge auf dem Papier erhalten hat.

Es wird nun auf einer entsprechend grofsen Glasplatte dünnflüssiges Kollodium (welches man eventuell mit Schwefeläther verdünnen kann) nach Art, wie es die Photographen thun, ausgebreitet. Wenn die Kollodiumschicht trocken geworden ist (ein paar Minuten genügen), drückt man die Schnitte, indem man über die Papierfläche vorsichtig mit der Hand streicht, an die dünne Kollodiumschicht an. Das Papier kann nun vorsichtig abgezogen werden, die Schnitte bleiben an der Kollodiumfläche in der Regel haften. Dieselben dürfen nicht eintrocknen und müssen deshalb mit 70%igem Spiritus feucht gehalten werden. Es wird eine zweite Kollodiumschicht in einer ähnlichen Weise wie die erste auf der Glasplatte mit den Schnitten, die man zuvor mit daraufgelegtem Fliefspapier getrocknet hat, ausgebreitet. Ist diese zweite Schicht ebenfalls trocken geworden, so mufs man die Platte samt den Schnitten sofort in die Farbe übertragen, wo die Schnitte mit der Kollodiumschicht von der Glasplatte abgehen und miteinander weiter behandelt werden können. Vor dem Einschliefsen kann man die Kollodiumplatte mit der Schere beliebig zuschneiden.

149. Nach einer in letzter Zeit oft angewandten Methode von Obregia (90) werden Celloidinschnitte zunächst auf Streifen von Klosettpapier, welche auf mit 70%igem Alkohol angefeuchtetem Filtrierpapier (in einem Teller) liegen, und dann auf Zuckerplatten übergeführt, welche in folgender Weise bereitet werden: Gut gereinigte Glasplatten werden mit einer syrupdicken Lösung von gewöhnlichem Zucker (in Wasser oder ca. 30%igem Alkohol) übergossen oder besser mit einem Pinsel bestrichen. Dann werden die Platten in einem Thermostat bei ca. 30° getrocknet — ist der Zucker in Alkohol gelöst, so kann derselbe einfach angezündet werden. Die Oberfläche des

Digitized by Google

Zuckers mufs glatt erscheinen, und die Zuckerschichte darf keine Blasen haben. — Die Schnitte werden mit dem Papier auf die Zuckerplatten gelegt und leicht angedrückt, dann wird das Papier langsam abgehoben, so dafs die Schnitte am Zucker kleben bleiben. Ist der an den Schnitten haftende Alkohol zum gröfsten Teil verdunstet, so werden die Schnitte mit einer mitteldicken Celloidinlösung in dünner Schicht übergossen. Ist diese getrocknet, so werden die Platten in Wasser gelegt; der Zucker löst sich und damit von der Platte auch die durch die aufgegossene Celloidinschicht als Serie vereinigten Schnitte, welche in gewöhnlicher Weise gefärbt und weiter behandelt werden können.

Vermittels dieser Methode kann man auch Paraffinschnitte, wenn es nötig ist (z. B. zur Weigertschen Färbung), in Celloidinschnitte umwandeln.

150. Apathy (87, 88) bringt die Celloidinschnitte auf Bergamottöl, das grün sein, nicht nach Terpentinöl riechen und mit 90 %igem Alkohol sich vollkommen mischen mufs. Ehe die ausgebreiteten Schnitte untersinken, zieht man einen nach dem anderen mit einer Nadel an ihren Platz auf ein in das Öl eingetauchtes Stück (so breit wie der Objektträger und dreimal so lang wie das Deckglas) Pauspapier. Dann hebt man letzteres aus dem Öl, läfst abtropfen, trocknet die andere Seite des Papiers auf Filtrierpapier, legt es dann mit den Schnitten auf einen ganz trockenen Objektträger und drückt es mit Filtrierpapier fest. Dann rollt man es so auf, dafs die Schnitte auf dem Glase bleiben, wo sie mit einem Streifen glatten Fliefspapiers durch Andrücken vom überschüssigen Bergamottöl befreit werden. Gefärbte Schnitte werden direkt mit Canadabalsam eingeschlossen, erst zu färbende setzt man Dämpfen von Alkohol und Äther einige Minuten aus, bringt sie auf 15 Minuten in 90 %igen Alkohol und kann dann in Farben färben, welche 70 %igen oder stärkeren Alkohol enthalten. In wässerige Lösungen kann man die Schnitte bringen, wenn man sie auf dem Papier so ordnet, dafs sich das Celloidin an den Rändern deckt, damit sie durch den Ätherdampf verkleben und sich zusammen als Membran, die dann weiter behandelt wird, im Wasser vom Glase abheben.

Neuerdings verfährt Apathy (89) so, dafs er die Schnitte auf dem mit gelbem Vaseline eingefetteten und mit 70—90 %igem Alkohol benetzten Messer selbst entsprechend der Deckglasgröfse mit einer Nadel ordnet.

Digitized by Google

Die Schnitte müssen mit den Celloidinrändern übereinandergreifen, oder sich mindestens berühren. Abtrocknen der Schnitte mit Filtrierpapier und Bepinseln mit konzentrierter Celloidinlösung, 5 Minuten verdunsten lassen. Dann benetzt man sie mit 70%igem Alkohol und schneidet weiter, oder legt, wenn man nicht mehr schneiden will, oder das Messer ganz voll ist, das Messer samt den Schnitten in 70%igen Alkohol. Darin wird das Celloidin als einheitliche Membran gehärtet, welche mit einem Skalpell vom Messer weggenommen und weiter behandelt wird. Man kann solche Membranen direkt auf den Objektträger legen, die Ränder mit Äther und Alkohol festkleben und dann färben.

151. Argutinsky (1900) empfiehlt folgendes Verfahren zum Aufkleben von Celloidinschnitten. Eine Anzahl sorgfältig gereinigte Objektträger werden (wie beim Aufkleben von Paraffinschnitten siehe § 145) mit einer gleichmäfsig dünnen Eiweifsschicht beschickt und letztere durch Erhitzen auf beinahe 100° C. zum Gerinnen gebracht. Die in 70%igem Alkohol geschnittenen Celloidinschnitte werden in einem Schälchen mit 70%igem Alkohol sorgfältig entfaltet, dann auf den, wie angegeben, vorbereiteten Objektträger übertragen und geordnet. Dann wird der den Objektträger und die Schnitte reichlich bedeckende Alkohol am Rande des Glases mit Filtrierpapierblättchen vorsichtig abgesogen. Um nun das Aufkleben der Schnitte zu bewirken, wird ein etwa acht bis zwölfmal gefalteter Streifen von glattem Filtrierpapier auf das mit Schnitten beschickte Objektglas gelegt. Durch ziemlich starkes Streichen mit dem Finger wird das Filtrierpapier an die noch nasse Oberfläche des Objektglases gepreſst, wodurch der Alkohol aufgesaugt und die Schnitte an die Eiweifsschicht sorgfältig angedrückt werden. Dann wird der Filtrierpapierstreifen abgenommen, und der Objektträger kommt mit den fest klebenden Schnitten sofort (damit sie nicht austrocknen) in ein Gefäfs mit destilliertem Wasser, um sogleich oder später weiter behandelt zu werden. Sie ertragen alle Flüssigkeiten, sofern solche das Eiweifs oder das Celloidin nicht auflösen (starke Säuren und absoluter Alkohol z. B. sind ausgeschlossen). Will man erst nach Tagen färben, so bewahrt man die Objektträger in 70%igem resp. schwächerem Alkohol auf.

152. Die in Celloidin eingebettet gewesenen Schnitte können auf einem gereinigten Objektträger flach ausgebreitet,

Digitized by Google

in Reihen geordnet, mit 96 %igem Spiritus angefeuchtet und mit Fliefspapier getrocknet werden.

Ist das geschehen, so werden sie samt dem Objektträger Ätherdämpfen kurze Zeit ausgesetzt; die Schnitte kleben nun, können aber zur Sicherheit in eine dünne Celloidinlösung (siehe § 147) eingetaucht, eine Minute in der Luft getrocknet, mit 80 %igem Spiritus behandelt, event. gefärbt etc. werden.

6. Kapitel.

Paraffinbefreiung.

153. Die Befreiung des Schnittes von Paraffin geschieht durch Lösung desselben in einer der oben (§ 73) angegebenen Flüssigkeiten; billig und wohlgeeignet hierfür ist Xylol.

Der Objektträger mit den (nach Kapitel 5) aufgeklebten Schnitten wird auf 3—5 Minuten in ein Glas (siehe § 179) mit Xylol gesteckt. Gleichzeitige Weiterbehandlung mehrerer Objektträger auch mit anderen Flüssigkeiten ist in Porzellanschalen mit Rillen (siehe § 179) möglich.

Mit Eiweifs-Glycerin aufgeklebte Schnitte müssen stets vor der Weiterbehandlung und dem Einschliefsen aus dem Xylol noch in absoluten Alkohol übertragen werden. Man hat vielfach mit schlechten Resultaten zu kämpfen, wenn man aus dem Xylol direkt in Xylol-Canadabalsam einschliefst, da ja das Aufklebe-Eiweifs mit Glycerin gemischt ist. Dieses, wenn es auch sehr wenig ist, mischt sich nicht mit Xylol und erzeugt Flecken.

7. Kapitel.

Einschliefsen.

154. Nachdem die Schnitte in der bisher angegebenen Weise behandelt worden sind, können sie untersucht werden. Hierbei empfiehlt es sich, namentlich gefärbte Schnitte in stärker lichtbrechenden Medien zu betrachten, z. B. Xylol, Nelkenöl, Glycerin (s. § 135).

155. Es ist wünschenswert, Schnitte für spätere Untersuchungen aufbewahren zu können. Die Schnitte werden zu diesem Zweck in eine **Einschlufsmasse** eingeschlossen, welche durchsichtig sein mufs und die Schnitte wie die Farben, womit dieselben gefärbt sind, möglichst wenig verändern soll. Die bisher genannten Medien eignen sich hierzu wenig. Xylol verdunstet rasch, Nelkenöl ändert manche Farben. Glycerin hat sich für viele Fälle zweckdienlich erwiesen.

Digitized by Google

Bei flüssig bleibenden Einschlufsmassen mufs der Rand des Deckgläschens mit dem Objektträger durch eine Kittmasse verbunden werden: Umranden, um das Abfliefsen desselben zu verhindern.

156. Die besten Einschlufsmassen sind Harze, welche zunächst in Lösung auf den Schnitt gebracht werden, dann trocknen, fest werden und damit zugleich das Deckgläschen festhalten. Man mufs jedoch im Auge behalten, dafs die Harzmassen ein hohes Lichtbrechungsvermögen besitzen und daher ungefärbte Gewebe sehr wenig deutlich erkennen lassen.

157. Einschlufs in Canadabalsam. Anfertigung des Canadabalsams. Der im Handel käufliche Canadabalsam ist meist in Terpentinöl gelöst. Er mufs in einer Schale bei nicht zu hoher Temperatur (etwa 60 ⁰ C.) zum Trocknen eingedampft werden und wird dann wieder in Xylol gelöst. Anstatt Xylol können auch andere Lösungsmittel, z. B. Chloroform, verwendet werden (s. § 73).

Der so zubereitete Canadabalsam wird in Flaschen aufbewahrt, deren Stopfen einen bis nahe dem Boden der Flasche reichenden Glasstab trägt, um ein tropfenweises Entnehmen des Canadabalsams zu gestatten.

Einschliefsen in Canadabalsam. Der Schnitt, welcher in Xylol oder einer der in § 73 angeführten Flüssigkeiten gewesen sein mufs, wird auf den Objektträger gebracht, ein Tropfen Canadabalsam kommt darauf, und ein Deckglas wird unter Vermeidung grofser Luftblasen aufgelegt. Kleine Luftbläschen schaden nicht, sie verschwinden später von selbst.

Aufgeklebte Schnitte, die nach § 153 behandelt sind, kommen, um den darin befindlichen Alkohol zu entfernen, noch einmal in Xylol, dann läfst man abtropfen (nicht trocknen!), bringt einen Tropfen Canadabalsam auf den Schnitt und deckt rasch mit einem Deckgläschen zu. Man mufs sich hüten, den Objektträger anzuhauchen, da das hierbei sich niederschlagende Wasser mit Xylol eine störende Trübung ergibt.

Die Präparate sind in den nächsten Tagen und Wochen bisweilen nachzusehen und, wenn durch Verdunstung des Xylols der Raum unter dem Deckglas nicht mehr gefüllt ist, nachzugiefsen. Dies geschieht, indem man einen Tropfen Canadabalsam an den Rand des Deckglases auf den Objektträger setzt. Man kann durch vorsichtiges Erwärmen des Präparats über der Flamme und vorsichtiges Drücken auf

Digitized by Google

das Deckglas nachhelfen. (Man kann auch die Blasen mit Xylol füllen und dann am Rande Canadabalsam zusetzen, welcher an Stelle des verdunstenden Xylols eingesaugt wird.)

158. Sollen Präparate rasch trocknen — und dies kann nötig werden, wenn sie mit Ölimmersionen betrachtet werden sollen und ein Abwischen des Öltropfens ohne Zerstörung des Präparats wünschenswert ist —, so können solche Präparate auf etwa 24 Stunden in einen Thermostat bei 45° C. ohne Schaden gebracht werden.

Von selbst trocknen die Präparate desto rascher, je dicker der angewandte Canadabalsam war, d. h. je weniger er Xylol oder dergl. enthielt; meist genügen etwa 14 Tage, um die Präparate wenigstens transportfähig zu machen.

159. Statt Canadabalsam kann man in derselben Weise Dammarharz (Pfitzner, 82) anwenden. Das letztere, namentlich in Benzin und Terpentinöl zu gleichen Teilen gelöst, hat den Vorzug, nicht so stark wie Canadabalsam aufzuhellen.

160. Einlegen in Glycerin. Wird jetzt hauptsächlich angewandt für Schnitte, welche nach der Färbung nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen sollen. Es bietet ferner den Vorteil, dafs es weniger stark Licht bricht und daher ungefärbte Gewebe leichter erkennen läfst.

Auf die Schnitte, welche aus Alkohol oder besser aus Wasser oder Glycerin selbst kommen müssen, wird ein Tropfen Glycerin gebracht und das Deckgläschen aufgelegt. Dann wird, wenn das Präparat aufbewahrt werden soll, umrandet (siehe § 162).

161. Nahezu konzentrierte wässerige Lösungen (33%) von essigsaurem Kalium werden wie Glycerin angewendet (für Osmiumsäurepräparate und Fett). M. Schultze (71).

162. Die **Umrandung** geschieht, indem man einen dicken Draht über der Flamme erhitzt, mit demselben von der Umrandungsmasse einen Tropfen abschmilzt und diesen zunächst an eine Ecke des Deckgläschens bringt, so dafs er Objektträger und Deckgläschen verbindet, dann an die anderen Ecken, und nun die Seiten zuschmilzt, indem man mit dem heifsen Stabe den Tropfen an den Seiten entlang führt. Der Verschlufs soll ein vollständiger sein, dabei aber mufs beachtet werden, dafs der Rand nicht zu weit auf die Fläche des Deckglases übergreift.

Vorbedingung für das Umranden ist, dafs der Tropfen Einschlufsflüssigkeit nicht über den Rand des Deckglases hervorquillt. Ist dies doch geschehen, so mufs er vor der Umrandung sorgfältig abgewischt werden.

Digitized by Google

Als **Umrandungsmassen** können dienen:

163. **Paraffin.** Dasselbe ist für den dauernden Einschlufs wenig zu empfehlen.

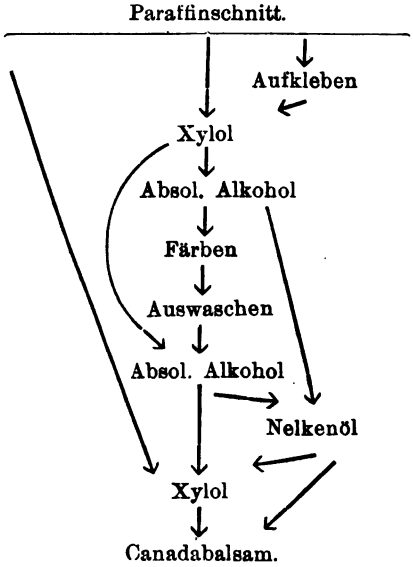
164. **Paraffin und Canadabalsam,** Apathy (89), Gleiche Teile Paraffin (von 60 ⁰ Schmelzpunkt) und Canadabalsam werden in einer Porzellanschale so lange erhitzt, bis keine Terpentindämpfe mehr aufsteigen oder mit terpentinfreiem Canadabalsam zu gleichen Teilen mischen (siehe § 157).

165. Der **Krönigsche Lack** (86) ist eine sehr gute Umrandungsmasse. Anfertigung: 2 Teile Wachs werden geschmolzen, hierzu stückweise 7—9 Teile Kolophonium unter Umrühren zugesetzt. (Vorsicht, da die Masse Feuer fangen kann!) Man kann die Masse durch Gaze heifs filtrieren.

Vor Anwendung einer Ölimmersion empfiehlt es sich, den Rand mit alkoholischer Schellacklösung zu überstreichen.

166. Der Dr. **Kaisersche Maskenlack,** der sich namentlich für das Umranden mit dem Drehtisch (runde Deckgläschen) empfiehlt, ist käuflich.

167. **Schema für Weiterbehandlung** des Paraffinschnitts.



Digitized by Google

8. Kapitel.

Die Färbung.

168. Betrachtet man einen dünnen Schnitt, welcher in der bisher angegebenen Weise angefertigt und eingeschlossen ist, so sieht man noch sehr wenig, da das Lichtbrechungsvermögen allein die verschiedenen Gewebe nur wenig unterscheiden läfst.

Deutlicher sieht man gefärbte Objekte, z. B. natürliche Färbungen, Pigmente, Pigmentzellen. Viele Fixierungsmethoden färben bestimmte Gewebe in einer Weise, welche dieselben deutlicher erkennen läfst, z. B. Osmiumsäure, Chromsäure, Pikrinsäure.

Mit Vorteil bedient man sich jedoch gewisser Farbstoffe, um die Gewebe zu färben.

169. Es ist ein erstrebenswertes Ziel einer auf wissenschaftlicher Erkenntnis basierenden Färbetechnik, sich darüber klar zu werden, mit welchen Vorgängen wir es bei den verschiedenen Färbungen zu thun haben. Doch ist dies heute noch keineswegs für alle Fälle sichergestellt. Eine Reihe von Färbungen beruht zweifellos auf chemischen Vorgängen, so z. B. die Berlinerblaureaktion zum Nachweis von Eisen in Schnitten (siehe § 517), ferner die Reduktion von Osmiumsäure durch Fett und andere Dinge. In solchen Fällen sind wir berechtigt, von einer mikrochemischen Färbung zu sprechen. Schwieriger ist die Beurteilung des Vorganges, wenn es sich etwa darum handelt, dafs ein Gewebsteil einen ihm zugeführten Farbstoff etwas rascher aufnimmt oder beim Auswaschen länger festhält als ein anderer. Eine Widerlegung der chemischen und eingehende Begründung der physikalischen Färbetheorie gibt neuerdings A. Fischer (99). Derselbe behandelt erschöpfend einige der wichtigsten Beweismittel der chemischen Theorie, wie die Metachromasie, die Doppelfärbung mit Differenzierung, verfolgt auch die Elektion aus Farbgemischen bis auf das primäre Absorptionsvermögen zurück und erkennt dasselbe als mechanisch erklärbar.

Wenn wir also auch die Mehrzahl der Färbungen nicht als mikrochemische Reaktionen bezeichnen dürfen, so haben dieselben doch den Wert einer tinktoriellen Reaktion und gestatten uns, Schlüsse zu ziehen, die unter Umständen an Sicherheit hinter den durch mikrochemische Reaktionen gestützten nur wenig zurückbleiben. Wenn es z. B. gelingt,

Digitized by Google

vermittelst bestimmter Methoden bestimmte Gewebe und Gewebsteile, z. B. Kerne, Zellgranula, elastische Fasern, Bindegewebsfibrillen, oder Stoffe wie Schleim, Fett und ähnliches so zu färben, dafs eben nur diese allein und zwar stets gefärbt werden, so können wir mit grofser Wahrscheinlichkeit schliefsen, dafs wir es, wenn eine solche Färbung in einem anderen Präparat auftritt, auch wieder mit demselben Gewebsteil, demselben Stoffe zu thun haben. Dabei ist aber stets im Auge zu behalten, dafs sehr oft ganz verschiedene Gewebsteile ein gleiches Verhalten gegen Farbstoffe zeigen können. Es würde daher zu falschen Resultaten führen, wollte man sich gleichfärbende Dinge stets für gleich halten. Solche Schlüsse dürfen nur bei besonderer Vorsicht und einer gewissen Erfahrung gezogen werden. Als sicherster Grundsatz der Färbetechnik muss daher gelten: was sich bei gleicher Behandlung verschieden färbt, ist auch verschieden.

170. Da von verschiedenen Fabriken unter demselben Namen oft nicht dieselben Farbstoffe geliefert werden, so ist zu beachten, dafs sich die folgenden Angaben auf Farbstoffe beziehen, welche von Dr. G. Grübler & Co. in Leipzig, Bayerische Str. 63, bezogen wurden.

171. Man hat schon früh bemerkt, dafs es bestimmte Gewebsteile sind, welche eine Reihe von Farbstoffen mit gröfserer Intensität aufnehmen und festhalten als andere; solche sind z. B. die Kerne. Kernfärbung.

Um eine gute Färbung, z. B. **Kernfärbung**, zu erhalten, ist das Verfahren stets folgendes: Man bringt den Schnitt in die betreffende Farbstofflösung. Nachdem dieselbe eine bestimmte Zeit eingewirkt hat, überträgt man den Schnitt in eine Flüssigkeit, in welcher der überschüssige Farbstoff in Lösung geht, z. B. Wasser oder Alkohol; man wäscht den Schnitt aus. Die Kerne sind es dann, welche allein den Farbstoff festhalten, und zwar meist nur ein Teil des Kerns, das Chromatin.

172. Läfst man den Schnitt nur so lange in der Farbe, bis die Färbung eine genügende ist, so spricht man von progressiver Färbung; beläfst man ihn länger darin, bis er überfärbt ist, in welchem Fall man dann auch länger mit geeigneten Flüssigkeiten auswaschen (differenzieren) muss, so spricht man von regressiver Färbung. Letzteres Verfahren ist besonders für die Färbung mit

Digitized by Google

manchen Teerfarbstoffen (siehe diese) von grofser Bedeutung.

173. Aufser dem Kerne färben viele Farbstoffe, welche zugleich gute Kernfärbemittel sind, mehr oder weniger stark andere Zellteile, sind also nicht reine Kernfarben.

174. Die Farbstoffe, welche sich am besten bewähren und daher fast allein angewandt werden, sind:

Karmin, gewonnen von der Cochenilleschildlaus,
Hämatoxylin, gewonnen aus dem Campecheholz (Blauholz),
die Anilinfarben (Teerfarbstoffe),
die Pikrinsäure,
für spezielle Zwecke Orceïn und indigschwefelsaures Natrium.

175. Die Anilinfarben dienen nicht alle zur Kernfärbung, wohl aber einige derselben, z. B. Safranin, Thionin, Methylgrün, Bismarckbraun, Fuchsin, Gentianaviolett.

176. Gefärbt werden entweder ganze Stücke vor dem Schneiden, **Stückfärbung**, oder Schnitte, **Schnittfärbung**.

Die erstere gestattet rascheres Arbeiten, die letztere bietet z. B. folgende Vorteile: Es kann die Färbung unter dem Mikroskop stets kontrolliert werden; man kann sich vieler Farben bedienen, welche zur Stückfärbung nicht angewendet werden können. Vor allem gehören hierher die Mehrzahl der Mehrfachfärbungen. Man kann unter Umständen auch beide Färbungsarten verbinden und dasselbe Objekt zuerst im Stück und dann im Schnitt färben.

177. Es empfiehlt sich, bei Einübung der Färbetechnik mit Hämatoxylin zu beginnen (etwa mit Hämalaun, siehe § 189), und zwar zunächst mit dem Färben nicht aufgeklebter Schnitte, erst in zweiter Linie mit dem historisch ältest angewandten Farbstoff, dem Karmin, zu färben, hierbei auch die Stückfärbung einzuüben und dann sich mit den verschiedenen Anilinfarben zu befassen.

178. Bei der Färbung verfährt man im allgemeinen folgendermafsen:

Nicht aufgeklebte Schnitte werden mit Spatel und Nadel in ein Uhrschälchen gebracht, welches etwa 5 ccm Farbe (z. B. Hämalaun) enthält. Die Schnitte müssen hierbei wie bei den folgenden Manipulationen stets glatt auf dem Spatel liegen.

Ist die Farblösung nicht alkoholisch, sondern wässerig, so empfiehlt es sich, die Schnitte (welche nach § 134 von Paraffin

Digitized by Google

befreit sind) aus Alkohol nicht direkt in die Farbe (z. B. Hämalaun) überzuführen, sondern vorher in Wasser, oder bei Hämalaun, in eine 1—2%ige Alaunlösung und sie darin einige Minuten zu belassen, da der im Schnitt enthaltene Alkohol mit der Farbe in unserem Fall einen Niederschlag geben könnte, welcher störend wirkt. Aufgeklebte Schnitte können ohne fühlbaren Schaden von absolutem Alkohol in Wasser übertragen werden; bei zarten, nicht aufgeklebten Schnitten empfiehlt sich hier stets, eine oder mehrere Mischungen einzuschalten, z. B. 50% und 70% oder 40, 60, 80% u. dgl., um die die Gewebe lädierenden starken Mischungsströme zu vermeiden.

Ist die Zeit vorbei, welche die Schnitte in der Farbe zu bleiben haben und welche im folgenden jedesmal angegeben ist, so werden die Schnitte aus wässerigen Farben (z. B. Hämalaun) in eine gröfsere Schale mit Wasser übertragen, wo sie wenigstens 10 Minuten ausgewaschen werden. (Beläfst man sie nach Hämalaunfärbung längere Zeit, etwa 1 bis 2 Stunden, im Wasser, so wird die Färbung eine distinktere. In alkoholischen Farblösungen gefärbte Schnitte werden in Alkohol ausgewaschen; je nachdem man dazu 50, 70, 95 etc. %igen oder absoluten Alkohol verwendet, erzielt man unter Umständen verschiedene Resultate.)

In Wasser ausgewaschene Schnitte müssen hernach wasserfrei gemacht werden; sie werden zu diesem Zweck mit Spatel und Nadel je etwa 3 Minuten erst in ein Schälchen mit 70%igem, dann 96%igem und endlich absolutem Alkohol übertragen, von da in ein ebensolches mit Xylol.

Namentlich das Übertragen in absoluten Alkohol mufs mit grofser Vorsicht geschehen, damit die Schnitte sich nicht rollen oder falten. Solche Falten bleiben, da die Schnitte in absolutem Alkohol so hart werden, dafs ein nachheriges Glattlegen mit Instrumenten meist eine Beschädigung des Schnittes herbeiführt. Leicht zu korrigieren ist eine solche Faltung dadurch, dafs man den Schnitt zurück ins Wasser bringt, wo die Faltung durch Bewegung des resistent gedachten Schnitts aufgehoben wird.

Aus dem Xylol werden die Schnitte auf den Objektträger gebracht; es kommt ein Tropfen Canadabalsam und das Deckgläschen darauf (siehe § 157).

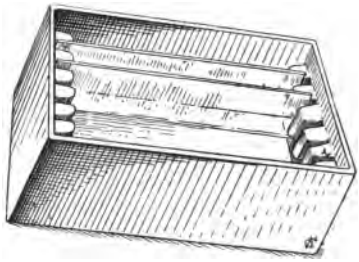
Nelkenöl ist zu vermeiden oder wieder gut mit Xylol auszuwaschen, weil Erfahrungen vorliegen, dafs dasselbe nachteilig auf das Halten der Farben einwirkt.

In derselben Weise wie Schnitte können auch auf Deckgläschen befestigte Präparate (siehe § 290) behandelt werden. Doch werden die Deckgläschen nicht mit dem

Digitized by Google

Spatel, sondern besser mit einer feinen Pincette aus einer Flüssigkeit in die andere übertragen.

179. Viel einfacher ist die Operation mit aufgeklebten Schnitten. Als Gefäfse, in welche die aufgezählten Flüssigkeiten gebracht werden, dienen hier Gläser, welche durchweg für die Färbetechnik auf dem Objektträger angewandt werden. Dieselben sind cylinderförmig, ohne Hals, mit einem Glasdeckel verschliefsbar. Sie sind so hoch, dafs ein hineingestellter englischer Objektträger noch um etwa 5 mm über den oberen Rand hervorsieht. Dieselben dürfen nicht so weit sein, dafs ein hineingestellter englischer Objektträger noch zu Boden fallen kann. Beabsichtigt man, eine gröfsere Anzahl von Objektträgern gleichzeitig zu färben, so bedient man sich mit Vorteil der Porzellantröge oder Glaströge mit Rillen (siehe Figur 2). Solche sind z. B. bei Martin Wallach in Kassel zu haben.



Figur 2. Rillentrog.

Die Objektträger, auf welchen die Paraffinschnitte nach § 138 ff. aufgeklebt sind, kommen zunächst in ein Glas (resp. einen Rillentrog) mit Xylol, von da in ein Glas mit absolutem Alkohol, je etwa fünf Minuten, dann in die Farbe. Auch hier wird, wenn nötig, Wasser zwischen Alkohol und Farbe eingeschaltet.

Im übrigen ist die Weiterbehandlung im wesentlichen dieselbe wie für nicht aufgeklebte Schnitte, nur ist zu beachten, dafs aufgeklebte Schnitte eher etwas länger in den Flüssigkeiten verbleiben müssen, da letztere nur von einer Seite einzuwirken vermögen.

Bei aufgeklebten Schnitten kann eventuell am Mikroskop bei schwacher Vergröfserung schon während des Auswaschens durch Besichtigung der herausgenommenen Objektträger kontrolliert werden, ob die Färbung eine genügende ist, was z. B. leicht am deutlichen Hervortreten der Kerne erkennbar ist. Endlich hat sich der Anfänger beim Einlegen davor zu hüten, die falsche Seite des Objektträgers mit Canadabalsam und Deckgläschen zu versehen und die Schnitte abzuwischen.

Digitized by Google

Karminfärbung.

180. Schneiders (80) Karmin. 45%ige Essigsäure wird zum Kochen gebracht, mit Karmin übersättigt und nach dem Erkalten filtriert.

181. Grenacherscher Karmin.

Löst man durch Kochen 1—2 g Borax in 100 g Wasser und fügt dann $^1/_2$—$^3/_4$ g Karmin zu, so löst sich dieser in kurzer Zeit mit einer dunkel-purpurnen Farbe. Nun setzt man nach dem Erkalten verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, bis die Farbe sich geändert und die einer gewöhnlichen ammoniakalischen Lösung angenommen hat. Man läfst das Ganze 24 Stunden stehen, um alsdann zu filtrieren.

Die Flüssigkeit färbt in kurzer Zeit diffus, die Schnitte müssen daher in Salzsäure 1 auf 1000 70%igen Spiritus so lange ausgezogen werden, als farbige Wolken den Schnitt verlassen; alsdann werden die Schnitte mit Spiritus abgewaschen und weiter wie gewöhnlich behandelt; Alk. abs., Xylol, Canadabalsam.

Die Karmine, die jetzt mit Vorliebe benützt werden, sind die folgenden, von **Grenacher** (79) angegebenen (Alaun- und Borax-Karmin) und die **P. Mayerschen** (Karmalaun und Parakarmin).

182. Alaunkarmin. Anfertigung. 100 ccm einer 1- bis 5%igen Lösung des gewöhnlichen oder Ammoniak-Alauns werden mit $^1/_2$—1 g Karmin vermengt und $^1/_4$ Stunde anhaltend gekocht und dann nach dem Erkalten filtriert.

Färbung: Die Schnitte kommen aus dem Wasser in diese Lösung und sind nach $^1/_2$ Stunde gefärbt. Ausgewaschen mit Wasser und weiter mit Alkohol etc. behandelt, zeigen sie eine fast ausschliefsliche Kernfärbung. Von sonstigen Gewebsteilen nehmen nur Muskeln etwas Farbe an. Sehr wichtig ist es, dafs Alaun-Karmin, auch längere Zeit angewandt, nicht diffus färbt, und dafs man ihn infolgedessen mit dem besten Erfolge zur Stückfärbung, z. B. für Embryonen und für Organteile, gebrauchen kann. Die Lösung schimmelt leicht, es mufs derselben etwas Karbolsäure zugesetzt werden.

183. Karmalaun nach P. Mayer (92). Karminsäure 1 g und Alaun 10 g löse man warm (oder auch bei gewöhnlicher Temperatur) in 200 ccm destilliertem Wasser, lasse absetzen und giefse ab oder filtriere, Thymolzusatz. Die Lösung ist haltbar. Stückfärbung. Auswaschen mit Wasser (will man eine ganz reine Kernfärbung haben, mit Alaunlösung, die wieder mit Wasser fortzuschaffen ist, oder in hartnäckigen Fällen mit schwacher Säure).

Digitized by Google

Zur Färbung namentlich gröfserer Stücke besitzen wir folgende zwei Borax-Karminlösungen:

184. Die **wässerige Borax-Karminlösung** wird folgendermafsen bereitet: 8 g Borax werden mit 2 g Karmin in einem Mörser verrieben und 130 ccm destilliertes Wasser hinzugesetzt. Nach 24 Stunden wird dekantiert und filtriert. Stücke, namentlich mit Sublimat fixierte, $^1/_2$—1 cm im Durchmesser, verbleiben in dieser Lösung, in welcher sie wenig oder gar nicht angegriffen werden, 24 Stunden. Nun werden sie in eine $^1/_2$- bis 1 %ige Salzsäure in 70 %igem Spiritus übertragen und bleiben darin ebenso lange; sie werden dann mit reinem 70 %igem Spiritus 1 Tag behandelt, in 95 %igen übertragen, durchtränkt und geschnitten. Sie zeigen eine exakte Chromatinfärbung, die mit Safranin wetteifern kann. Eine nachträgliche Färbung zur Doppelfärbung ist selbstverständlich zulässig.

185. Will man die zu färbenden Stücke nicht in Kontakt mit Wasser bringen, so bediene man sich der spirituösen resp. alkoholischen Karminlösung. Viel gebraucht wird die sogenannte **alkoholische Borax-Karminlösung**:

2—3 g Karmin
4 g Borax
93 ccm Wasser

werden zur Lösung gebracht, 100 ccm 70 %igen Alkohols zugesetzt, dann wird geschüttelt und filtriert. Färbung wie in § 184.

186. Für Stück- und Schnittfärbung hat P. Mayer (81) folgende Karminlösung empfohlen:

4 g Karmin werden in 15 ccm Wasser suspendiert, es werden dann 30 Tropfen Salzsäure unter Erwärmen hinzugefügt. Nun kommen 95 ccm Spiritus von 85 % hinzu, das Ganze wird aufgekocht und mit Ammoniak neutralisiert, nach dem Erkalten filtriert. Färbung wie § 184.

Wegen der Entzündlichkeit der Alkoholdämpfe ist das Kochen von Spiritus mit Vorsicht auszuüben.

187. Parakarmin nach Paul Mayer (92.)

Karminsäure 1 g
Chloraluminium $^1/_2$ g
Chlorcalcium 4 g
Spiritus 70 % 100 ccm.

Es ist hiermit eine Farbe gegeben, die sehr einfach herzustellen ist, und die, was von grofsem Wert, in 70 %igem Spiritus gelöst ist; Schnitte und Stücke brauchen nach der Fixierung nicht mit Wasser in Berührung zu kommen.

Digitized by Google

Aber auch die Anwendung der Farbe ist eine möglichst einfache; Parakarmin färbt rasch, und bei kleineren Stücken ist Überfärbung nicht zu befürchten, das Auswaschen geschieht ebenfalls in 70%igem Spiritus; auch ein Paar centimetergrofse Stücke lassen sich in 24 Stunden durchfärben.

Ist Überfärbung eingetreten, so wäscht man in ½%igem Chloraluminium in 70%igem Spiritus, event. 2,5%igem Eisessig in 70%igem Spiritus aus. Parakarmin ist hauptsächlich Kerne färbend.

188. Cochenille-Alaun. **Man mische 25 g pulverisierter Cochenille und nahezu ebenso viel pulverisierten Alauns und gebe es in ungefähr 800 g Aqua dest.; das Ganze wird in einer Abdampfschale unter beständigem Umrühren eine halbe Stunde lang bis auf 600 g eingekocht; Thymolzusatz und nach dem Erkalten mehrmals filtrieren. Darin werden Embryonen je nach der Gröfse eine Stunde bis einen Tag und darüber gefärbt und so lange ausgewaschen, als noch eine Farbwolke herausgeht. Vor der Färbung müssen die Embryonen aus dem Alkohol so lange in Wasser kommen, bis sie untersinken und der Alkohol ganz entfernt ist.** (Czokor, C. Rabl 94.)

Hämatoxylinfärbung.

Hämatoxylin (eingeführt in die mikroskopische Technik von Waldeyer) hat eine sehr mannigfache Anwendung gefunden, zur Färbung von Kernen und als Färbemittel für andere bestimmte Zwecke.

Es kann zur Schnittfärbung und zur Stückfärbung verwandt werden. (Stückfärbung: §§ 189, 195, 196, 199.)

Voraus stellen wir Hämalaun, da hier für die Anfertigung der Farbe präzise Daten gegeben werden können.

189. Paul Mayer (91 und 92) empfiehlt eine Hämatein-Alaunlösung, **Hämalaun.** 1 g Hämatein wird in 50 ccm Alkohol von 90% unter Erwärmen gelöst und zu einer Lösung von 50 g Alaun in 1 l Wasser gegossen unter Thymolzusatz. Nach dem Erkalten wird event. filtriert. Hämatein ist unter dem Namen Hämateinum crystallisatum im Handel bekannt. Es wird in der Weise bereitet, dafs man eine wässerige Hämatoxylinlösung (1 : 20) unter Erwärmen löst, mit 1 ccm Ätzammoniak versetzt und vor Staub geschützt abdunsten läfst. Die Vorzüge des Hämalauns sind grofse, die Farbe kann sofort nach dem Bereiten benützt werden (das Reifen fällt weg), färbt rasch, überfärbt (namentlich mit Wasser verdünnt) nicht, dringt

Digitized by Google

tief ein, ist also auch mit Vorteil für Stückfärbung anzuwenden. Nach der Färbung wird mit destilliertem Wasser gewaschen.

190. Böhmersches Alaunhämatoxylin. Die Zubereitung ist nach Böhmer (65) und Frey (68) folgende: 0,35 Teile Hämatoxylin werden in 10 Teilen absoluten Alkohols gelöst. Eine zweite Lösung besteht aus

0,1 Alaun und
30 destillierten Wassers.

Man bringt einige Tropfen der ersteren Lösung in letztere, bis sich ein schönes Violett entwickelt.

Ebenso kommt man zum Ziel auf folgende Weise: Man fertige sich an: eine 1 bis 2 %ige Alaunlösung in Wasser und eine gesättigte Hämatoxylinlösung in absolutem Alkohol, lasse letztere tropfenweise in erstere einfliefsen, bis eine violette Lösung entsteht. (Die zuzusetzenden Mengen sind je nach dem Hämatoxylinpräparat verschieden.)

Diese Lösung wird beim Stehen dunkelblau; sie mufs ausreifen, d. h. sie kann erst nach etwa 14tägigem Stehen (in offenem, vor Staub geschütztem Gefäfs) verwandt und mufs vor dem Gebrauch filtriert werden. Ist die für die Zubereitung verwandte alkoholische Hämatoxylinlösung alt (einige Monate) und rostbraun geworden, so ist das Ausreifen überflüssig (Apathy 96).

Das Böhmersche Hämatoxylin wird zur Schnittfärbung benützt. Es eignen sich hierfür am besten mit Salpetersäure, Pikrinsäure oder Sublimat fixierten Stücken entnommene Schnitte, weniger gut solche von Chromsäurepräparaten und solche, welche mit Osmiumsäure oder einem Osmiumsäure enthaltenden Gemisch behandelt wurden. Solche Schnitte können aufgeklebt oder nicht aufgeklebt gefärbt werden.

191. Mit Böhmerschem Hämatoxylin (gut ausgereifte Lösung) kann man entweder 2 Minuten färben und dann 10 Minuten in Wasser auswaschen (beläfst man die Schnitte längere Zeit, etwa 1—2 Stunden, im Wasser, so wird die Färbung eine distinktere), oder man färbt 3—5 Minuten. Die Zeit mufs dann ausprobiert werden, d. h. man mufs bisweilen einen Schnitt herausfangen und in Wasser bringen, um zu sehen, ob er die richtige Farbe hat. Der Schnitt soll hellblau, nicht aber zu dunkel werden. Darnach ist etwa 10 Minuten auszuwaschen und in der angegebenen Weise weiter zu behandeln. Es besteht bei diesem Verfahren die Möglichkeit, dafs die Schnitte überfärbt werden; man verfahre dann nach § 192.

192. Mit Hämatoxylin (rasch geschieht dies z. B. bei dem Böhmerschen) ist es möglich, zu stark zu färben, zu überfärben. Ist dies geschehen, so sind die Schnitte dunkelblau geworden. Hier hilft ein Auswaschen in

Digitized by Google

Wasser, auch wenn man es lange fortsetzt, nichts. Wohl aber können die Schnitte noch gut werden, wenn man solche aufgeklebte oder nicht aufgeklebte Schnitte in Wasser bringt, welchem etwas Säure zugesetzt ist, z. B. ein Tropfen Salzsäure auf 30 ccm Wasser. Hier bleiben die Schnitte, bis sie violett geworden sind (einen roten Schimmer bekommen). Dann kommen sie in Leitungswasser und werden in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt.

Vorzügliche Dienste leisten auch andere Säuren. z. B. Schwefelsäure oder Oxalsäure. Für Oxalsäure hat man sich als Regel zu merken, dafs hier nur mit destilliertem Wasser gearbeitet werden darf, um Krystallbildung zu vermeiden.

Eine entgegengesetzte Korrektion von z. B. durch zu langes Verweilen in der Säure rot gewordenen Schnitten kann man hervorrufen, indem man dieselben sehr lange in fliefsendes Leitungswasser bringt, oder rasch, indem man dem Wasser Spuren Salmiakgeist zusetzt, z. B. einen Tropfen auf 100 ccm. Die Schnitte werden dann wieder blau.

193. Was ist nun das Resultat einer gut gelungenen Hämatoxylinfärbung? Intensiv blau gefärbt ist das Chromatin der Kerne, leicht bläulich in verschiedenen Abstufungen die verschiedenen Bestandteile der Zellen, ziemlich stark färbt sich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels u. s. w.

194. Delafieldsches Hämatoxylin (siehe Prudden, 85). Um 600 ccm Flüssigkeit zu erlangen, löse man 4 g des krystallisierten Hämatoxylins in 25 ccm absoluten Alkohols. Diese Lösung giefse man in 400 ccm einer konzentrierten wässerigen Ammoniak-Alaunlösung. Nach 3 bis 4 Tagen, während welcher die Flüssigkeit offen in einer Flasche im Lichte stehen gelassen wird, filtriert man und giefst je 100 ccm Glycerin und Methyl-Alkohol hinzu. Nach ein paar Tagen filtriere man abermals; es wird diese Flüssigkeit vor dem Gebrauche gewöhnlich mit Wasser verdünnt.

Färbung wie beim Böhmerschen Hämatoxylin, mit Wasser auszuwaschen. Schnittfärbung.

195. Friedländersches (82) Hämatoxylin besteht aus:

Hämatoxylin	2,0
Alkohol	100,0
Aqua dest.	100,0
Glycerin	100,0
Kalialaun	2,0.

Eventuell kann der Lösung 10 ccm Eisessig zugesetzt werden, um Überfärbung zu vermeiden (Ehrlich). Färbung: Ein in diese braune Lösung eingelegter Schnitt wird in kurzer Zeit ebenfalls braun gefärbt; der Schnitt wird in destilliertem Wasser ausgewaschen und verändert binnen

Digitized by Google

wenigen Minuten seine Färbung in blau. Stückfärbung gleichfalls möglich.

196. Kleinenbergsches (76) Hämatoxylin (alkoholisch). 1. Man bereitet eine gesättigte Lösung von krystallisiertem Chlorcalcium in 70 %igem Alkohol und fügt so viel Alaun, als sich lösen will, hinzu. 2. Eine gesättigte Lösung von Alaun in 70 %igem Alkohol wird mit der ersteren im Verhältnis von 8 : 1 gemischt. 3. In diese Mischung bringt man tropfenweise Hämatoxylin in konzentrierter alkoholischer Lösung bis zur Blaufärbung des Ganzen. — Die Herstellung der Farbe erfordert infolge der unbestimmten Angaben persönliche Erfahrung. Die exakt färbende Flüssigkeit ist aber von Wert für Präparate, welche nicht mit wässerigen Flüssigkeiten in Berührung kommen dürfen.

197. Ein Hämatoxylin, bei welchem das lästige »Reifen« wegfällt, stellt Hansen (95) durch Oxydation der Hämatoxylin-Alaunlösung in der Wärme auf folgende Weise dar: a) 1 g Hämatoxylin wird in 10 g Alkohol abs. gelöst. b) 20 g Kalialaun werden in 200 g Aqua dest. warm gelöst, nach der Abkühlung wird filtriert. Am folgenden Tage Mischung von a) und b). 3 ccm von einer bei 15° C. konzentrierten wässerigen Kaliumpermanganatlösung mifst man in eine Porzellanschale, giefst dann die Hämatoxylinalaunmischung zu und erwärmt unter stetem Umrühren bis zum Sieden. Man läfst $^1/_2$ bis 1 Minute sieden, kühlt rasch ab und filtriert.

198. Glychämalaun von P. Mayer (96), sehr lange haltbar. Hämateïn 0,4 g, Alaun 5 g, Glycerin 30 ccm, dest. Wasser 70 ccm. Man löse unter Zerreiben im Mörser das Hämateïn in ein wenig Glycerin und setze dann den Rest des Glycerins nebst der (warm oder kalt bereiteten) Alaunlösung hinzu. Da leicht etwas Alaun ausfällt, so filtriere man die Lösung erst nach einigen Tagen.

199. Die **R. Heidenhainsche** (86) **Hämatoxylinfärbung** ist eine Stückfärbung. Anfertigung der Farbe: Eine $^1/_3$ %ige wässerige Lösung von Hämatoxylin wird bereitet. Dieselbe kann frisch verwandt, aber im Licht nicht lange aufbewahrt werden.

Färbung: Die in Alkohol oder gesättigter Pikrinsäurelösung fixierten Objekte kommen in die Farbe für 24 Stunden, dann ebenfalls 24 Stunden in eine $^1/_2$ %ige wässerige Lösung von einfach chromsaurem Kalium (Kalium chromicum flavum). Dieses wird durch die auftretenden Farbwolken rasch gefärbt und mufs daher mehrmals gewechselt werden. Dann werden die Stücke in Wasser ausgewaschen und kommen in Alkohol von steigender Konzentration. — Alk. abs., Xylol, Paraffindurchtränkung ist zulässig. Bedingung ist Anfertigung feinster Schnitte

Digitized by Google

von 5 μ und weniger. Neben der Kernfärbung erhält man ausgezeichnete Protoplasmafärbung.

Am besten eignen sich für diese Färbung Präparate, welche mit Alkohol oder Pikrinsäure (siehe § 25 resp. 59) fixiert wurden. Wenn man eine $^1/_2$ %ige Hämatoxylinlösung und eine $^1/_2$ bis 1 %ige Chromkaliumlösung nur wenige Stunden einwirken läfst, beide in grofsen Mengen und letztere öfters wechselt, so erhält man nach Apathy eine reine aschgraue Färbung, die auch bei dickerem Schneiden noch deutliche Bilder gewährt.

200. Hämatoxylin-Eisenalaun nach M. Heidenhain (92, 94 und 96). Mit Wasser aufgeklebte Schnitte (höchstens 5 μ) besonders von Sublimatpräparaten kommen in eine 1,5 bis 4 %ige (für Centralkörper ausschliefslich $2^1/_2$ %ige) wässerige Eisenammonium-Sulfatlösung auf 2 bis 3 Stunden (für Centralkörper nicht unter 3, besser 6 bis 8, ja bis 12 Stunden); nach sorgfältigem Abspülen in Leitungswasser wird in der Hämatoxylinlösung (1 g Hämatoxylin auf 10 Alkohol und 90 Wasser lasse man 4 Wochen stehen, verdünne zum Gebrauch mit dem gleichen Volumen Aqua dest.) 24 bis 36 Stunden gefärbt. (Die Güte der Centralkörperfärbung wächst bei längerem Gebrauch ein und derselben Farbquantität.) Ausziehen der pechschwarz gewordenen Schnitte in derselben ($2^1/_2$ %igen) Eisenalaunlösung. Die Entfärbung kontrolliere man (für Centralkörper mit Wasserimmersion) nach Abspülen des Objektträgers in einer grofsen Quantität Leitungswasser. Man unterbreche die Differenzierung je länger je häufiger. Zum Schlufs 10 bis 15 Minuten in fliefsendem Wasser abspülen. Resultat: Färbung der Mikrosomen und der gröberen Teile der Chromatinstruktur, der Gallenkapillaren, des Schlufsleistennetzes, der quergestreiften Muskulatur und der Zymogenkörnchen. Zur nachträglichen Tinktion des Protoplasmas färbe man (M. Heidenhain und R. Krause) mit einer Spur von Rubin in schwachsaurer Lösung nach.

201. Nifslsche (94b) Hämatoxylinfärbung. Die sehr feinen Schnitte kommen eine halbe Stunde lang in Tinctura ferri acetici Rademacheri, worauf sie oberflächlich mit Wasser abgespült werden, um sodann wiederum eine halbe Stunde lang in die Weigertsche Hämatoxylinlösung (Hämatoxylin 1, Alkohol 10, 100 Wasser) zu kommen. Nach oberflächlichem Abspülen in Wasser werden sie kurz zur Differenzierung in 1 Salzsäure auf 100 70 %igen Alkohol verbracht, um dann 10 Minuten in Wasser zu kommen, worauf nach Verbringung des Schnittes in Alkohol und Öl sein Einschlufs in Balsam erfolgt.

Digitized by Google

202. Die besonderen Zwecken dienenden Hämatoxylinfärbungen von Weigert, Pal, Kultschitzky siehe § 482 ff, 485, 487 f, von Benda § 624.

Teerfarben (Anilinfarben).

203. Bei der Färbung kann im allgemeinen mit Vorteil in zweierlei Weise vorgegangen werden: Entweder beläfst man die Schnitte nur so lange in der Farbe, bis das zu Färbende genügend gefärbt ist, progressive Färbungsmethode; oder aber man überfärbt den Schnitt (bis sämtliche Elemente desselben gleichmäfsig gefärbt erscheinen) und wäscht dann mit dazu geeigneter Flüssigkeit so lange aus, bis alle Teile des Schnittes den Farbstoff abgegeben haben, bis auf diejenigen, welche die Farbe am längsten festhalten, regressive Färbungsmethode. (Vergl. auch § 171 ff.) Mit den Teerfarben werden nach der regressiven Methode besonders exakte Färbungen (z. B. Chromatin) erzielt.

Gute, zum Teil progressive, zum Teil regressive Kernfärbungen erhält man mit Safranin, Thionin, Gentianaviolett, Methylgrün, auch Bismarckbraun. Aber auch zur Färbung anderer Zellbestandteile sind die Anilinfarben sehr nützlich, so Eosin, Orange G., Fuchsin S. u. s. w. — Für letztere Zwecke werden sie jedoch seltener allein, sondern meist im Anschlufs an eine Kernfärbung angewandt und sollen daher erst in den folgenden Kapiteln: Doppel- und Mehrfachfärbung — abgehandelt werden.

Das Färbevermögen eines grofsen Teils der Anilinfarben ist, abgesehen von der Zeit, fast unabhängig von der Konzentration; man mache es sich zur Regel, bei der progressiven Färbung mit dünnen Lösungen zu färben. Für die regressive Färbung wird man dagegen in den meisten Fällen mit konzentrierteren arbeiten.

204. Ehrlich (91) klassifiziert die Anilinfarbstoffe von anderen Gesichtspunkten wie die Chemiker. Er nennt saure Farbstoffe jene Verbindungen, bei denen, wie in pikrinsaurem Ammon, eine Säure das färbende Prinzip darstellt. Säurefuchsin, Orange, Nigrosin, Bordeaux, Kongorot, Benzoazurin, Eosin, Erythrosin, Lichtgrün SF., Indulin, Aurantia.

Die basischen Farbstoffe sind, wie das essigsaure Rosanilin, aus einer Farbbase und einer indifferenten Säure entstanden gedacht. Dazu gehören: Methylenblau N., Safranin, Methylgrün, Thionin, Gentianaviolett, Fuchsin (Magenta), Bismarckbraun, Methylviolett etc.

Digitized by Google

Die neutralen schliefslich denke man sich, wie das pikrinsaure Rosanilin, durch Zusammentritt einer Farbbase und einer Farbsäure entstehen.

Wir werden jedoch von der Klassifikation Ehrlich's aufser im Kapitel Blut und Lymphe (siehe dort) weniger Nutzen haben, weil die basischen und sauren Farbstoffe Ehrlich's nicht genau unseren Kernfärbemitteln oder andere Bestandteile der Zelle färbenden Teerfarben entsprechen. Für unsere speziellen Zwecke kommt nämlich nicht das Färbevermögen allein, sondern auch die Resistenz der Farbe gegen die Nachbehandlungsmittel (Auswaschen, Entwässern, Einschliefsen etc.) in Betracht, kurz darauf, wie der Farbstoff sich schliefslich verhält, wenn man ihn die Summe der Prozeduren durchmachen läfst, welche die regressive Methode erfordert (P. Mayer, 98).

205. Die im folgenden wiedergegebenen Teerfärbungen und die im Kapitel Doppel- und Mehrfachfärbung erwähnten reichen für die gewöhnlichen Zwecke der Schnitt- und Stückfärbung aus. Teerfarben, welche speziellen Zwecken dienen (z. B. Methylenblau, Dahlia etc.), werden im speziellen Teil erwähnt.

Kernfärbung mit (basischen) Teerfarben.

206. **Safranin** ist ein wertvolles Kernfärbemittel, vor allem für Präparate, welche mit Flemmingscher Lösung behandelt sind.

Safraninlösung wird hergestellt nach Pfitzner (80):

1 Teil Safranin
100 Teile Alkohol abs.
200 Teile Aqua dest.

Man löse zunächst Safranin in Alkohol, was 24 Stunden und länger dauert, und setze nach erfolgter Lösung Wasser zu.

Schnittfärbung 24 Stunden, dann wird in Alkohol abs. ausgezogen. Zieht man mit Flemmingscher Lösung behandelten Objekten entnommene Schnitte, welche mit Safranin stark gefärbt sind, mit schwach saurem Alkohol abs. (1‰ Salzsäure) aus, so erhält man nur bestimmte Teile des Kerns gefärbt: Chromatin. Alkohol abs., Xylol, Canadabalsam.

207. Thionin färbt nach P. Mayer (98) progressiv (konzentrierte wässerige Lösung kurze Zeit) und regressiv vorzüglich Chromatin; in letzterem Fall lange Differenzierung (Stunden) mit Alkohol für Präparate aus Sublimat und Flemmingscher Lösung.

Digitized by Google

208. Methylgrün ist Kernfärbemittel. Zubereitung: 1 auf 100 Aqua dest. (+ 25 Alkoh. abs.); es wird 10 Minuten gefärbt. Für 24stündige Färbung mit 20%igem Spiritus auf das Doppelte oder mehr zu verdünnen. Schnittfärbung, dann waschen in Wasser, ausziehen in 70%igem Spiritus kurze Zeit (1—2 Minuten), Alkohol abs. 1 Minute, Xylol, Canadabalsam.

Die Hauptbedeutung des Methylgrüns im Vergleich zu Safranin liegt in seiner besseren Verwendbarkeit zu Mehrfachfärbungen mit roten Farbstoffen (z. B. Eosin, Fuchsin S., auch Orange).

Über die Verwendung des Methylgrüns als Kernfarbstoff für frische Gewebe siehe § 250.

209. Bismarckbraun nach Weigert (78). Anfertigung: 1 auf 100 Wasser wird aufgekocht und filtriert, dann wird ein Drittel des Volumens absoluter Alkohol zugesetzt. Färbung (Schnittfärbung): Die Färbezeit ist beliebig (etwa 2—24 Stunden), da Bismarckbraun nicht leicht überfärbt; dann auswaschen in Wasser; weiter in absoluten Alkohol, Xylol, Canadabalsam, auch aus Wasser in Glycerin. — Reine Kernfärbung. Eignet sich nach P. Mayer auch für Stückfärbung.

210. Fuchsin (Magenta), Anwendung wie Safranin.

211. Gentianaviolett, Anfertigung und Färbung wie Safranin.

Mehrfachfärbung.

212. Wendet man bestimmte Farben in Mischung oder nacheinander auf denselben Schnitt an, so findet man die bemerkenswerte Thatsache, dafs sich nicht etwa alle Gewebsteile des Schnitts in der Farbe der Mischung färben, sondern die einen Gewebsteile mit der einen, andere mit der anderen Farbe.

Man benutzt dieses elektive Vermögen der Gewebe zur Färbung und spricht bei Anwendung von zwei Farben von einer Doppelfärbung, bei mehreren von Mehrfachfärbungen.

Wenn sich ein Schnitt gegen zwei Farben ganz gleich verhält, so ist dies keine Doppelfärbung in unserem Sinne. Gute Doppelfärbungen geben nur ganz bestimmte Farbenzusammenstellungen, solche haben aber auch grofsen Wert für histologische Untersuchung.

Beispiele von Mehrfachfärbungen: Man kann eine kernfärbende Farbe verwenden und hernach eine andere Farbe,

Digitized by Google

welche dann das Chromatin nicht färbt, wohl aber den übrigen Teil des Kerns und der Zelle. Solche sog. plasmafärbende Farben sind z. B. Eosin und Orange.

Einen anderen Zweck verfolgt eine Zusammenstellung mehrerer kernfärbender Farben; sie ermöglichen, verschiedene Teile des Kerns oder verschiedene Kernarten auseinander zu kennen.

Man kann auch wieder mehrere nicht kernfärbende Farben mit einer kernfärbenden zusammenstellen und erhält so drei- und mehrfache Färbungen.

Eine Reihe von Farben werden angewandt für ganz bestimmte Gewebe. Diese werden bisweilen auch verbunden mit einer kernfärbenden Farbe.

Im nachfolgenden ist eine Auswahl der wichtigeren Mehrfachfärbungen zusammengestellt, und zwar der Reihe nach: Anwendung verschiedener Farben zugleich mit Karmin, Hämatoxylin, Safranin, Methylgrün.

Als geeignete Farbe zur Doppelfärbung mit Hämatoxylin empfiehlt sich besonders Eosin; mit diesem ist die Doppelfärbung einzuüben (siehe § 220).

213. P. Mayer's Pikromagnesiakarmin: Zu 1 Vol. Magnesiakarmin (Karmin 1 g, Magnesia usta 0,1 g mit 20 ccm dest. Wasser 5 Min. gekocht, auf 50 ccm verdünnt, dann filtriert und mit 3 Tropfen Formol versetzt) setzt man 9 Vol. einer Lösung von pikrinsaurer Magnesia (200 ccm einer 0,5%igen Lösung von Pikrinsäure in dest. Wasser mit 0,25 g kohlensaurer Magnesia bis zum Kochen erhitzen, absetzen lassen und filtrieren [feste Pikrinmagnesia ist von Grübler in Leipzig zu beziehen]) hinzu. Man kann auch zu 1 Vol. Magnesiakarmin 4 Vol. der erwähnten Lösung von pikrinsaurer Magnesia und 5 Vol. des schwachen Magnesiakarmins in 100 ccm Magnesiawasser (0,1 g Magnesia usta mit 100 ccm gewöhnl. Wasser eine Woche lang unter öfterem Schütteln in Kontakt stehen, dann absetzen lassen, dann abgiefsen) hinzusetzen. Auswaschen in dest., event. in Magnesiawasser. Färbt Schnitte rasch, kann auch zur Stückfärbung benützt werden.

214. Weigertsches (81) **Pikrokarmin.** 2 g Karmin werden mit 4 ccm Ammoniak übergossen und bleiben 24 Stunden, geschützt vor Verdunstung, stehen; es werden dann 200 g wässerige konzentrierte Pikrinsäure zugesetzt und wiederum 24 Stunden stehen gelassen. Es werden nun ganz kleine Mengen Essigsäure hinzugesetzt, die allmählich einen starken Niederschlag verursachen, der auch beim Umrühren nicht verschwindet. Nach 24 Stunden filtriert man. Geht der feine Niederschlag durch den Filter, so setze man Spuren

Digitized by Google

von Ammoniak hinzu, wodurch der Niederschlag gelöst wird. Löst Eiweifs ab.

215. **Karmin-Bleu de Lyon.** Man schicke eine Karminfärbung (Stück- oder Schnittfärbung, z. B. Alaunkarmin, Boraxkarmin) voraus. Bleu de Lyon wird in absolutem Alkohol gelöst und so stark mit absolutem Alkohol verdünnt, dafs die Flüssigkeit kaum mehr blau erscheint. Darin werden die Schnitte 24 Stunden nachgefärbt. Die Färbung ist als Doppelfärbung für allgemeine Zwecke geeignet; ihre Verwendung für spezielle Zwecke siehe § 387.

216. Paul Mayer (96) machte darauf aufmerksam, dafs **Indigokarmin** in folgender einfacher Weise angewandt werden kann: Er setzt von einer Lösung von 0,1 g Indigokarmin in 50 ccm dest. Wasser (oder 5%iger Alaunlösung) dem Hämalaun oder dem Karmalaun nach Bedürfnis $^1/_{20}$—$^1/_5$ seines Volumens zu.

217. Apathy (96) empfiehlt Indigokarmin zur Nachfärbung mit Safranin an in Hermannscher Flüssigkeit fixierten Präparaten.

218. Alaunkarmin-Dahlia, Westphal (siehe Ehrlich [76], § 299.)

219. Die **Pikrinsäure** als zweite Farbe ist aufser ihrer Anwendung in der Form, wie es bei den Pikrokarminen geschieht, auch zu anderen Doppelfärbungen geeignet. Man hält sich eine gesättigte wässerige Lösung vorrätig (wie für die Fixation). Diese wird für die Färbung im Verhältnis von 1 : 3 mit Wasser verdünnt. Diese Lösung kann zur Nachfärbung von mit Karmin, Hämatoxylin oder Safranin vorgefärbten Präparaten benützt werden. Bei Schnitten genügt kurze Nachfärbung 2—5 Minuten. Dann wird in Wasser ausgewaschen, Alkohol, Xylol, Canadabalsam. Beim Auswaschen behalte man im Auge, dafs die Pikrinsäure in fliefsendem Wasser rasch fast vollständig weggeht; man kann jedoch schon mit blofsem Auge den Moment erkennen, in welchem der Schnitt eben noch einen gelben Ton besitzt. — Weiter kann diese Nachfärbung mit Pikrinsäure auch im Stück geschehen; diese erfolgt je nach der Gröfse des Objekts in 2—24 Stunden. Auf Präparate, welche mit Boraxkarmin im Stück gefärbt sind, wirkt die Pikrinsäure als Säure (Karmin ausziehend), es können daher solche Stücke direkt aus dem Boraxkarmin in die Pikrinsäure übertragen werden (ohne vorher in sauren Alkohol zu kommen). Wenn man Stücke zuerst in Pikrinsäure auf 24 Stunden legt und dann mit Karmin, z. B.

Digitized by Google

Alaunkarmin, nachfärbt, erhält man für manche spezielle Zwecke gute Färbungen. So können sowohl in Pikrinsäure selbst fixierte Stücke behandelt werden, als auch z. B. in Sublimat oder Alkohol fixierte. Für manche Zwecke wird Pikrinsäure auch in alkoholischer Lösung angewandt.

220. Hämalaun-Eosin. Zeitlich getrennte Färbung. Für diese Doppelfärbung wird zunächst (nach § 178) ein Präparat in Hämalaun gut gefärbt und mit Wasser ausgewaschen. Dieses Präparat kommt in eine Eosinlösung. Es empfiehlt sich, eine 1%ige Eosinlösung in Wasser anzufertigen. Für die meisten Objekte genügt es, diese Lösung um das 3 bis 5fache zu verdünnen. Darin bleiben die Schnitte 3—5 Minuten. Bei stärkeren Lösungen genügt etwa 1 Minute; dann werden sie zunächst gut in Wasser ausgewaschen. Dasselbe muſs so lange gewechselt werden, bis es nicht mehr rot erscheint. Nun kommen die Schnitte für 2—5 Minuten in 96%igen Alkohol, von da je 1 Minute in absoluten Alkohol, Xylol, Canadabalsam. Es ist sehr wesentlich, daſs die Eosinfärbung nicht zu stark ist, da ein überfärbtes Präparat undeutlich wird.

Korrektion von mit Eosin überfärbten Präparaten ist möglich durch Ausziehen mit schwächerem Alkohol, 70% oder 80%; Zeit: Minuten, eventuell Stunden.

Eosin wurde als Tinktionsmittel von Fischer (75) vorgeschlagen.

221. Rawitz (95b) empfiehlt, zuerst mit Eosin und hernach mit Hämatoxylin zu färben. Er färbt in sehr verdünnter Eosinlösung (1—3 Tropfen der konzentrierten Eosinlösung auf 25—50 ccm destilliertes Wasser) 24 Stunden. Dann wird flüchtig (bis 10 Minuten) in destilliertem Wasser abgewaschen, in einer entsprechend verdünnten Hämalaun- bezw. Hämatoxylinlösung gefärbt und wie üblich weiter behandelt. Wir haben nach diesem Verfahren gute Resultate erhalten.

222. van Giesonsche Färbung (cit. nach v. Kahlden 95). 1. Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit oder in Alkohol. 2. Färben $^1/_2$ Stunde lang in Hämatoxylin. 3. Gründliches Auswaschen in Wasser. 4. Färben 3—5 Minuten lang in einer Mischung von Pikrinsäure, gesättigte, wässerige Lösung und Säurefuchsin, gesättigte, wässerige Lösung so viel, daſs die Mischung eine tiefrote Farbe erhält. 5. Abspülen in Wasser, $^1/_2$ Minute lang. 6. Spiritus, Alkohol, Hopfenöl, Canadabalsam. Die Methode ist sehr bequem zu handhaben und gibt eine sehr schöne Doppelfärbung. Die Kerne werden braunrot, das Bindegewebe leuchtend rot. Ein weiterer

Digitized by Google

Vorteil ist die gleichzeitige Färbung von Amyloid, Colloid, Hyalin und Schleim. van Gieson hat ursprünglich die Hämalaunlösung von Delafield empfohlen. Die gewöhnliche Alaunhämatoxylinlösung gibt aber sehr gute Resultate. Man überfärbt die Schnitte, weil die Pikrinsäure zum Teil eine entfärbende Wirkung ausübt.

223. Hämatoxylin-Orange G. Es kann nach der Kernfärbung mit Hämatoxylin (z. B. nach Böhmer) mit Orange G. in ähnlicher Weise und mit ähnlichen Resultaten wie mit Eosin nachgefärbt werden; doch empfiehlt es sich hier, mit stärkeren Lösungen, etwa 1%ig, ungefähr 24 Stunden oder auch kürzere Zeit zu färben, in 96%igem Alkohol zu extrahieren, absoluter Alkohol, Xylol, Canadabalsam.

224. Hämatoxylin-Congorot siehe § 529.

225. Hämatoxylin-Safranin (C. Rabl, 85). Man färbe die mit Chromameisensäure oder Platinchloridlösung (siehe § 63 und 64) fixierten Schnitte mit Delafieldschem Hämatoxylin nur wenig intensiv, wasche sie mit Wasser event. in schwach angesäuertem Alkohol und färbe mit Safranin (filtrierte gesättigte alkoholische Safraninlösung 1 Volumen + 2 Volumina Wasser) 12—24 Stunden (2 bis 4 Stunden genügen in der Regel); darauf werden die Objekte mit absolutem Alkohol so lange behandelt, bis sie keine roten Wolken mehr abgeben.

226. Hämatoxylin-(R. Heidenhain-)Karmin. Nach der R. Heidenhainschen Stückfärbung (s. § 199) kann man noch eine gute Kerntinktion erzielen, wenn man beispielsweise wieder im Stück mit Grenacherschem Alaunkarmin färbt oder die Schnitte mit Böhmerschem Hämatoxylin nachfärbt.

227. Hämatoxylin-Doppelfärbung, Apathy (89) empfiehlt folgende Färbung (besonders für Nervensystem von Hirudineen), welche zu recht instruktiven Bildern führen kann: Kleine Objekte werden in ½%ige wässerige Hämatoxylinlösung auf ½ Stunde gelegt, kurz mit Wasser gewaschen, dann mit 1%iger Kalium bichromicum-Lösung in Wasser 2 Stunden lang behandelt, wieder gewaschen, geschnitten. Die Schnitte werden mit schwachem wässerigem Alaun-Hämatoxylin in üblicher Weise nachgefärbt (Apathy rät zu Celloidindurchtränkung).

228. Methylgrün-Eosin in Mischung.

1%ige wässerige Methylgrünlösung, davon 60 Teile.
1%ige wässerige Eosinlösung, davon 1 Teil.
Durch Alk. abs. auf 100 Teile zu ergänzen.
10 Minuten färben, in Wasser 5 Minuten auswaschen.
Alk. abs. 1 Minute, Xylol, Canadabalsam.

Bei dieser und der folgenden Färbung ist Methylgrün Kernfärbemittel, die begleitende Farbe Eosin resp. Fuchsin S. färbt andere Zellteile.

Digitized by Google

229. Methylgrün kann mit Fuchsin S. in Mischung verbunden werden, auf 1%ige wässerige Methylgrünlösung 60, 1%ige wässerige Fuchsin S.-Lösung 20; gefärbt wird wie im vorigen, aber nur kurz im Wasser ausgewaschen, da das Fuchsin S. im Wasser rasch weggeht, dann Alk. abs., Xyol, Canadabalsam.

230. Eine Färbung mit Methylgrün und Safranin nach einander kann für spezielle Zwecke zur Differenzierung verschiedener Kerne vorteilhaft sein.

231. Methylgrün-Fuchsin S-Orange. — (**Biondi-Ehrlich**) von R. Heidenhain (88) empfohlen und modifiziert. Dieses und ähnliche Gemische, in welchen die sauren Farbstoffe (im Sinne Ehrlichs) überwiegen, werden auch Triacidgemische genannt.

Anfertigung: Es werden gesättigte wässerige Lösungen der 3 Farben angefertigt. Dieselben müssen mehrere Tage stehen und öfters geschüttelt werden. Dann werden gemischt:

100 ccm Orange,
20 » Fuchsin S.,
50 » Methylgrün.

Es empfiehlt sich weniger, die Farbmischung als Pulver direkt von Grübler in Leipzig zu beziehen. Färbung: Zur Färbung wird 1 Teil der gesättigten Lösung mit 60—100 Teilen Wasser verdünnt. Es wird 24 Stunden gefärbt und dann in Alkohol ausgezogen. Alk. absol. Xylol-Canadabalsam. Geeignet für Sublimatpräparate. Bietet aufser den bei Methylgrün-Eosin und Fuchsin S. erwähnten Resultaten noch Färbung der Blutkörperchen orange.

Die ursprüngliche Ehrlich-Biondische Lösung ist von der gesättigten Lösung 10 ccm Orange, 1 ccm Fuchsin S., 3 ccm Methylgrün.

R. Krause (93) entnehmen wir: Die besten Resultate geben in Sublimat oder mit Sublimatgemischen fixierte Präparate. Zubereitung der Farbe: Rubin S. (löst sich 20 g in 100 ccm Wasser), Orange G. (8 g in 100 Wasser), Methylgrün (8 g in 100 Wasser). Von den gesättigten wässerigen Lösungen mischt man 4 ccm der ersten mit 7 ccm der zweiten, dann gebe man 8 ccm der dritten zu. Verfährt man so, dann entsteht kein Niederschlag, welcher sonst fast unvermeidlich ist. Zur Färbung wird 1 ccm dieser Stammlösung auf 50 oder 100 ccm Wasser verdünnt. Zeit der Färbung 24 Stunden (mit Wasser resp. dünnem Spiritus angeklebte Schnitte). Vor der Färbung

Digitized by Google

ist es manchmal vorteilhaft, die Schnitte 1—2 Stunden in 2‰ Essigsäure zu belassen. (M. Heidenhain [92] setzt der Farbe tropfenweise Essigsäure 1 : 500 unter stetem Umrühren so viel zu, bis der Farbenton in ein kräftiges Karmin umschlägt.) — Ausziehen mit reinem oder etwas angesäuertem 90%igem Alkohol.

232. Tabelle der häufiger angewandten Mehrfachfärbungen.

Karmin.

Karmin-Hämatoxylin § 386
» -Pikrinsäure § 219
» -Indigokarmin § 216
» -Indulin § 541
» -Dahlia § 299
» -Bleu de Lyon § 215
Pikrokarmin § 214
Pikromagnesiakarmin § 213.

Hämatoxylin.

Hämatoxylin-(Hämalaun)-Eosin § 220
» » -Orange § 223
» » -Pikrinsäure § 219
» » -Congorot § 529 und § 541
» » -Safranin § 225
» » -Pikrokarmin
» » -Orceïn § 327
» » -Mucikarmin § 536
» » -Fuchsin S.-Pikrinsäure § 222 (§ 322, 323)
» (nach R. Heidenhain-)Karmin § 226
» (nach M. Heidenhain)-Rubin § 200.

Safranin.

Safranin-Gentianaviolett § 622
» -Gentianaviolett-Orange § 249
» -Methylgrün § 230
» -Pikrinsäure § 219
» -Indigokarmin § 217.

Methylgrün.

Methylgrün-Eosin § 228.
» -Fuchsin S. § 229
» -Fuchsin S.-Orange § 231.

Weitere Literatur zu Kapitel 8: Gierke 84, 85.

Digitized by Google

9. Kapitel.

Rekonstruktionsmethoden

von G. Born, Breslau.

233. Eine körperliche Anschauung der zelligen Elementarteile läfst sich meist leicht aus einem und demselben Schnitte durch successives Einstellen der aufeinanderfolgenden optischen Durchschnittsebenen gewinnen; wo dies wegen der ungewöhnlichen Form oder Ausdehnung der Elementarteile Schwierigkeiten macht (Purkyne'sche Zellen der Kleinhirnrinde), da hilft die Kombination von Bildern, die mehreren, verschieden orientierten Schnitten entnommen sind.

Schwieriger wird das Gewinnen körperlicher (dreidimensionaler) Anschauungen mitunter schon bei den sich zunächst aus Zellen aufbauenden Organulis; — wurden doch die Endteile vieler Drüsen nach den einzelnen Schnittbildern bis vor kurzem fälschlich als »acinös« [beerenförmig] bezeichnet, während es in Wirklichkeit alveoli, — längere, aber mannigfach hin und her gebogene und ausgebauchte Schläuche sind. In vielen solchen Fällen führt die Benützung stark aufgehellter Dickschnitte und der bei der älteren Histologenschule vielbeliebten spezifischen Macerationsmittel (Holzessig, Salzsäure, starke Alkalien u. dergl. mehr) zum Ziele; gewisse Objekte dieser Art hat man jedoch aus den Schnitten rekonstruieren müssen (körperliche Form der Schilddrüsenfollikel nach J. Streiff u. dergl.).

Es bleibt aber noch eine grofse Zahl von anatomischen und namentlich von embryologischen Ojekten übrig, die einerseits zu klein und von zu komplizierter Form sind, als dass sich von ihnen durch Präparation und direkte Betrachtung mit der Lupe oder mit schwachen Mikroskopvergröfserungen eine ausreichende körperliche (plastische) Vorstellung erwerben liefse, die aber andererseits viel zu grofs und wieder zu kompliziert sind, als dafs aus einzelnen Schnitten oder aus Macerationspräparaten ihre Form (namentlich auch die der Binnenräume) richtig erschlossen werden könnte. In diesen Fällen ist man gezwungen, eine Rekonstruktion solcher Gebilde aus den Bildern, die die aufeinanderfolgenden Schnitte einer Serie gewähren, auszuführen.

234. Die Rekonstruktion kann entweder eine flächenhafte (rein zeichnerische) sein, bei der die Tiefendimension nur durch Verkürzung und Schattierung in der Fläche

Digitized by Google

einigermafsen dargestellt wird, oder sie ist eine körperliche — plastische. In beiden Fällen wird die Rekonstruktion wohl immer mit einer mehr oder weniger erheblichen Vergröfserung verbunden sein. Wie leicht verständlich, erscheint die zeichnerische Rekonstruktion häufig nur als ein provisorisches Hilfsmittel und mufs auf leichtere Fälle beschränkt werden.

Alle Rekonstruktionsmethoden sind mühsam und zeitraubend; man vermeide sie also, wenn man mit anderen Hilfsmitteln, mit Präparation, Maceration, Injektion, Korrosion u. s. w., auskömmt; andererseits kann nicht genug davor gewarnt werden, sich auf die vielfach beliebte »Rekonstruktion im Kopfe« (aus den Schnittbildern) bei irgend welchen schwierigen Objekten zu verlassen. Aufserdem liefern namentlich die plastischen Rekonstruktionen vergröfserte und darum leichter demonstrable Präparate.

235. Die Voraussetzung jeder Rekonstruktion ist die Herstellung einer lückenlosen Serie von parallelen Schnitten durch das Objekt, — eine Forderung, die (mit Ausnahme einiger besonderer Konstruktionen) mit allen modernen Mikrotomen leicht zu erfüllen ist. Meist wird die Serie gleichmäfsig dick sein; — doch kann es sich in besonderen Fällen empfehlen, zwischen dickere Schnitte in bestimmten Abständen einen halb so dünnen einzuschalten. Unter allen Umständen mufs die Schnittdicke bestimmt und bekannt sein; man wähle je nach der Gröfse und Schneidbarkeit des Objekts Schnittdicken von **6, 8, 10, 12, 15, 20** μ. Die Schnittrichtung ist zwar theoretisch beliebig, in praxi aber ist meist eine zu der Hauptaxe des Objekts parallele oder senkrechte Richtung zu bevorzugen.

Stückfärbung ist der Schnittfärbung durchaus vorzuziehen; ebenso Paraffin- der Celloidineinbettung. Unter allen Umständen müssen die Schnitte in richtiger Aufeinanderfolge ganz glatt — ohne irgendwelche Verschiebung (auch von ringsum isolierten Teilen!), ohne Verzerrung und Faltenbildung auf den Objektträger aufgelegt und aufgeklebt werden. Die hierfür gebräuchlichen und empfehlenswerten Verfahren siehe oben § 138 u. folg. und unten § 239.

Die Zuverlässigkeit und Schönheit jeder Rekonstruktion hängt durchaus von der Vollkommenheit der Schnittserie ab; man verschwende keine Mühe und Zeit mit Rekonstruktionsversuchen aus lückenhaften, ungleichen und schlecht aufgelegten Serien!

Digitized by Google

236. Methoden von Rekonstruktionen in der Fläche:

1. Die Herstellung eines Bildes, dessen Fläche senkrecht zur Schnittebene der Serie liegt (projektive Konstruktion nach His, das älteste und auch jetzt noch vielfach und mit Erfolg benützte Verfahren). — Beispielsweise Aufgabe: Es sei das Bild der Organe eines kleinen menschlichen Embryos im Medianschnitte nach einer gleichmäfsigen Querschnittsserie von 20 μ Dicke in 50facher Vergröfserung herzustellen. — Lösung: Von dem in Cedernholzöl (oder dergl.) aufgehellten, im Stück gefärbten Embryo werden möglichst vielseitige Zeichnungen bei bestimmter (5 oder 10facher) Vergrösserung abgenommen; für unser Beispiel ist eine genaue Profilzeichnung notwendig. (Die Zeichnungen sind wo möglich, während der Embryo im flüssigen Paraffin liegt, zu wiederholen.)

Jeder Schnitt der 20 μ dicken Querschnittserie ist bei 50facher Vergröfserung zu zeichnen, um diesen Zeichnungen die nötigen Mafse direkt entnehmen zu können. Arbeitet man a) ohne Richtebene (siehe § 238), so mufs die Schnittrichtung genau bekannt sein, — oder dieselbe mufs durch Vergleich der Lage bestimmter Punkte in den Schnitten und im Profilbilde aufgesucht und in dieses eingetragen werden. Arbeitet man b) mit Richtebene, so ist die genaue Fixierung der Schnittrichtung entbehrlich.

Ad a). Eine Pause der auf 50mal gebrachten Profilzeichnung wird so auf »Millimeterpapier« geklebt, dafs die Querlinien des Papiers der bekannten oder nachträglich bestimmten Schnittrichtung genau parallel laufen; nun numeriert man die Querlinien vom Kopfende an entsprechend den Schnittnummern und trägt auf jeder Linie die Abstände, die die Organe auf der 50fach vergröfserten Zeichnung des zugehörigen Schnittes in der Medianlinie vom Umrifs der Profilzeichnung und von einander zeigen, ab. Die Verbindung der entsprechenden Punkte gibt dann den Umrifs der betreffenden Organe im Medianschnitte.

Ad b). Die Medianlinie jedes 50mal vergröfserten Schnittbildes wird soweit verlängert, bis sie die mitgezeichnete Richtlinie schneidet. Diese Medianschnittpunkte der Richtlinien werden in der Reihenfolge der Schnitte auf einer Senkrechten des Millimeterpapiers markiert und numeriert. Die Abstände, welche die Umrifslinien und die Organe in der Medianlinie auf den 50mal vergröfserten Zeichnungen von diesen Punkten zeigen, werden an den

Digitized by Google

zugehörigen Horizontalen des Millimeterpapiers abgetragen und die entsprechenden Punkte der aufeinanderfolgenden Linien miteinander verbunden. Bei diesem Verfahren entsteht der Umrifs des ganzen Embryos erst nachträglich zugleich mit den Umrissen der Organe bei der Konstruktion des Medianschnittes.

Es ist klar, dafs sich nach dieser Methode auch laterale Teile, auf die Medianebene projiziert, darstellen lassen, so dafs man z. B. nicht nur den Umrifs, sondern auch annähernd das abschattierte Tiefenbild der median durchschnittenen Organe herstellen kann. In gleicher Weise lassen sich auch Lateralansichten, Frontalschnitte, Frontalaufsichten u. s. w. aus einer Querschnittserie gewinnen.

Nach einer solchen zeichnerischen »Durcharbeitung« einer Serie in den verschiedensten Schnitten und Aufsichten ging His daran, das betreffende Objekt (oder bestimmte Organe desselben) unter stetiger Berücksichtigung der den Schnittbildern entnommenen Mafse »frei« zu modellieren — ein Verfahren, das trotz ausgezeichneter Resultate in den Händen seines Autors wegen der hohen Anforderungen, die es bei mannigfachen subjektiven Fehlerquellen an das künstlerisch-technische Geschick des Arbeiters stellt, kaum Nachahmung gefunden hat.

2) Die »graphische Isolierung« nach Kastschenko (86, 87, 88; siehe in Zeitschr. f. wiss. Mikr. 87, p. 355 auch die Vorläufer.) Vorausgesetzt ist, dafs (nach Kastsch.) das Objekt im Paraffin von ihm dicht anliegenden, sich winklig schneidenden und zur Schnittebene senkrechten »Definierflächen« umgeben ist, oder dafs sich neben demselben eine »Richtfläche mit Richtleisten« (siehe § 238) befindet. — Die vergröfserten Schnittbilder der »graphisch zu isolierenden Organe« werden der Reihenfolge nach übereinander auf Karton gezeichnet, wobei aber dafür gesorgt wird, dafs sich jedesmal die Durchschnittslinien der Definierflächen, resp. die gezackten Richtlinien genau decken. So entsteht ein richtig orientiertes System um- und nebeneinander gelagerter Umrifslinien, nach denen sich die Aufsicht auf das Organ senkrecht zur Schnittebene leicht entsprechend schattiert herstellen läfst.

237. Für plastische Rekonstruktionen wird jetzt allgemein die Plattenmodelliermethode (Born) benützt. — Ihr Prinzip ist folgendes:

Aus jedem Schnitte einer gleichmäfsigen Serie werden die Teile, die man plastisch rekonstruieren will, in einer

Digitized by Google

bestimmten Vergröfserung auf Platten aufgezeichnet, die ebensovielmal dicker als die Schnitte der Serie sind, wie die Flächenvergröfserung beträgt. Die interessierenden Teile werden dann aus den Platten herausgeschnitten und die Ausschnitte der Reihenfolge nach aufeinandergeklebt. Geschieht dies in der richtigen Weise — ohne seitliche Verschiebungen —, so mufs, nachdem die Stufen zwischen den Rändern der Platten geglättet sind, ein in allen drei Dimensionen richtig vergröfsertes plastisches Abbild des durch die Schnittserie zerlegten Objektes herauskommen.

Nehmen wir zur Erläuterung ein ähnliches Beispiel wie oben: — Aus der gleichmäfsig 20 μ dicken Querschnittserie durch einen kleinen menschlichen Embryo sei der Darmkanal 50mal vergröfsert plastisch zu rekonstruieren. — Man hat dazu die Durchschnittsfigur des Darmkanals aus jedem Schnitte in 50facher Vergröfserung auf 50×20 μ, d. h. 1 mm dicke Platten aufzuzeichnen. Die richtig übereinander geklebten Ausschnitte der Durchschnittszeichnungen des Darmes aus diesen Platten ergeben die 50mal vergröfserte, plastische Rekonstruktion des Organes.

In betreff der Einzelheiten des Verfahrens sei hier noch folgendes bemerkt — für Genaueres mufs auf die angeführte Literatur verwiesen werden:

238. Richtfläche mit Richtleisten. Wenn man nicht nach einer fertigen Serie modellieren mufs, versäume man nicht, an dem Paraffinblock dicht neben dem Objekte eine zur Schnittebene senkrechte Richtebene mit ebenso senkrechten Richtleisten anzubringen; auf den Schnitten resultiert daraus eine neben jedem Schnitte liegende, gezackte Richtlinie (über Zweck und Bedeutung derselben siehe unten § 242). Das neue, hier wiedergegebene Verfahren von Born und Peter (98, 99), das jetzt schon vielfach erprobt ist, schliefst sich direkt an die gewöhnliche Art, nach der man Paraffinblöcke giefst, an. Über andere, ältere, in einzelnen Fällen sogar unentbehrliche Verfahren zur Herstellung von Richtlinien siehe die angeführte Literatur.

Man stellt sich eine rechteckige Kammer her, indem man zwei rechte Winkel (Neapler Rähmchen) auf einer plangeschliffenen, mit drei Füfschen versehenen Grundplatte so zusammenfügt, dafs ihre unteren Ränder genau mit den (2 cm langen) Seiten eines auf der Grund-

Digitized by Google

platte eingeritzten Quadrates zusammenfallen. Dieses quadratische Feld der Grundplatte, das den Boden der Kammer bildet, trägt in einem mittleren Streifen ein System von untereinander und zu zwei Seiten des Quadrates parallelen, dicht nebeneinder liegenden Ritzen. Am vorteilhaftesten ist es, Grundplatte und Winkel aus Glas herzustellen (in vorzüglicher Ausführung [aber nicht billig] von Zeiss-Jena zu beziehen); aus Metall kann dieselben leicht jeder Mechanikus anfertigen (event. Kleinert, Breslau, Breitestrafse). In diese rechteckige Kammer, deren Grundplatte und Seitenwände vorher sehr sorgfältig mit Alkohol und dann mit Chloroform geputzt wurden (event. zuletzt noch mit einem minimalen Tröpfchen eines Gemisches von gleichviel konz. Glyc. und Alk. abs. abgerieben), und die im ganzen auf einige 50° C. erwärmt war, wird auf etwa 70° C. erhitztes Paraffin eingegossen, — das imbibierte Objekt eingebracht und (für eine Querschnittserie) mit seiner Längsaxe senkrecht zu der dem Arbeiter zugewandten Seitenfläche (der Fufsfläche) orientiert. Bei gläserner Grundplatte benützt man dazu bei durchfallendem Lichte sichtbare, sich senkrecht überkreuzende, geschwärzte Linien, die auf der Unterseite des quadratischen Feldes eingraviert sind. Die Kammer wird aufsen mit Eiswasser umgeben, und das Erstarren durch Zutropfen heifsen Paraffines so geregelt, dafs sich keine Seite des Blockes einzieht. Nach längerem Liegen in Eiswasser lösen sich Winkel und Grundplatte glatt ab; — man erhält einen rechteckigen (parallelepipedischen) Paraffinblock. Die Fufsfläche desselben wird auf die mit definitiv festgestelltem Quermesser auf dem Paraffintische des Mikrotoms angeschnittene Fläche aufgestellt und mit überhitztem Paraffin an dieser festgeschmolzen; dann stehen die Längsaxe des Objekts, die von der Grundplatte abgelöste, mit parallelen Leisten versehene Fläche des Blockes (die Richtfläche), sowie diese Leisten selbst (die Richtleisten) senkrecht zur Schnittebene. Die Leistenfläche erhält einen dünnen Anstrich von schwarzem Alkohollack; nur wenn nachgefärbt werden soll — was besser zu vermeiden ist —, benützt man dazu mit Rufs geschwärztes, dünnes Kollodium. Nach vollständiger Trocknung des Lacküberzuges schneidet man um das Objekt und von der Leistenfläche alles, was nicht notwendig ist, vorsichtig ab; der Rest wird auf einen Augenblick in Paraffin von 75° C. getaucht und

Digitized by Google

nach dem Erkalten dieses Eintauchen so oft wiederholt, bis die Leistenfläche (Richtfläche mit Richtleisten) einen etwa einen Millimeter dicken Paraffinüberzug trägt.

Wenn nun das Quermesser beim Schneiden der Serie nicht mehr verrückt wird, wird das Objekt in Schnitte zerlegt, die senkrecht zur Längsaxe desselben stehen und welche gleichzeitig die geschwärzte Richtfläche mit den Richtleisten senkrecht treffen. Dicht neben jedem Schnitte liegt dann eine feine, gezackte, schwarze »Richtlinie« (mit vom Schnitte abgewendeten Zacken!). — Würde man sämtliche Schnitte der Reihenfolge nach so aufeinander legen können, dafs alle gezackten Richtlinien sich wieder zu einer senkrechten Richtfläche mit senkrechten Richtleisten zusammenfügten, so würden auch alle Organdurchschnitte richtig, d. h. ohne seitliche Verschiebung aufeinanderfallen. — In der hier angedeuteten Weise — nur dafs nicht die Schnitte, sondern deren vergröfserte Bilder aufeinandergelegt werden — werden die Richtlinien bei Flächenrekonstruktionen (§ 236), sowie bei der Plattenmodelliermethode benützt.

239. Die Schnittserie. Man lege die mit warmem Wasser (bis 40° C.) gestreckten Schnitte reihenweise auf den Objektträger auf und überstreiche nach dem Lufttrockenwerden dünn, aber vollständig mittels eines weichen, gut abgestrichenen Pinsels mit Kollodium-Ricinusöl nach Strasser (10 Vol. Kollod., 10 Vol. Äther, 15 Vol. Olei Ricini). — Nun läfst man die Objektträger kurze Zeit liegen und taucht sie dann nur gerade so lange in Toluol (oder dergl.), bis das Paraffin gelöst ist, darauf deckt man sogleich mit einem an der Unterseite mit einem Tropfen Balsam armierten Deckglase ein. Bei längerem Verweilen in Toluol, Xylol oder dergl. leidet die feine Lacklinie leicht. Für die seltenen Fälle, in denen man nachfärben oder in Celloidin einschliefsen will, mufs auf die Literatur verwiesen werden.

240. Das Zeichnen. Man zeichne mit Benützung des Oberhäuserschen Prismas, des Abbe'schen Spiegels oder am besten unter Zuhilfenahme eines Projektionsapparates, da dieser selbst bei starken Vergröfserungen (100—150 mal), die immer zu bevorzugen sind, ein grofses und ebenes Gesichtsfeld gewährt. Walzt man die Platten selber aus, so zeichne man mit Kopierstiften (um Kopien abnehmen zu können) auf ein möglichst ungeleimtes Druckpapier; auf fertige Platten wird mit einem weichen Bleistift gezeichnet. Man

Digitized by Google

mache es sich zur Regel, eher etwas zu viel, als zu wenig zu zeichnen.

241. Die Platten wurden anfänglich aus Wachs gegossen. Jetzt werden meist gewalzte, planparallele Wachspapierplatten (nach Strasser-Borns Vorschriften) benützt. Bei diesen ist eine Wachsschicht zwischen zwei Papierblättern eingeschlossen; das eine Blatt dient zur Aufnahme der Zeichnung (möglichst ungeleimtes Druckpapier, siehe den vorigen Paragraphen), das andere Blatt ist nur eine Decklage von Florpapier. Die Papierüberzüge verleihen den Platten, und damit dem ganzen Modell, einen hohen Grad von Elasticität. Solche Wachspapierplatten liefert Dr. Grübler-Leipzig in den gebräuchlichsten Dicken. Da man aber von jeder Platte nur einen kleinen Ausschnitt braucht, kommt die Benützung der käuflichen Platten ziemlich teuer zu stehen; es ist daher dringend anzuraten, die Wachspapierplatten nach den bei Born (88) gegebenen Vorschriften selbst herzustellen. Andere, mitunter benützte Materialien, wie Pappen, Bleche und dergl., sind weniger zu empfehlen.

242. Das Ausschneiden und das Aufeinanderpassen der Ausschnitte. Zum Ausschneiden werden am besten ganz kurze, schmale und spitze Messerchen (abgeschliffene Skalpelle) benützt. Man beginne mit den Hohlräumen und lasse zwischen allen, gar nicht oder nur schmal zusammenhängenden Teilen provisorische Verbindungsstreifen (»Brücken«) stehen, die später — wenn die vorher getrennten Teile sich beim Aufeinanderpassen vereinigt haben — entfernt werden; bleiben Modellstücke dauernd isoliert, so werden die »Brücken« zuletzt durch Drahtstifte und dergl. ersetzt. An der »Richtlinie« bleibt ein fingerbreiter Wachsstreifen stehen, aus dem die Richtzacken herausstehen; natürlich wird dieselbe auch mit den Schnitten durch »Brücken« verbunden.

Muſs man ohne »Richtlinien« modellieren, so braucht man doch keine allzugroſsen Fehler zu befürchten: »Die Profilkontur, durchgehende gestreckte Gebilde, wie Chorda, Blutgefäſse u. s. w., schützen meist vor falschen seitlichen Verschiebungen bei dem Aufeinanderpassen der Ausschnitte; auſserdem besitzen die Schnitte durch ein einigermaſsen kompliziertes Gebilde so viele Merkmale zweiter und dritter Ordnung, die immer nur eine bestimmte Art der Aufeinanderpassung möglich oder wahrscheinlich machen, daſs ein Abirren nicht leicht vorkommen kann.«

Digitized by Google

Besser und sicherer aber ist es, eine »Richtlinie« neben jedem Schnitte zu haben. Man braucht dann nur die die Richtlinien tragenden Wachsstreifen so aufeinander zu passen, dafs die Richtlinien mit ihren Zacken senkrecht über einander fallen, damit alle Ausschnitte des Objektes richtig — ohne seitliche Verschiebungen — aufeinander zu liegen kommen (siehe p. 76 den Schlufs von § 238).

243. Die Vollendung des Modells. Man lege zuerst etwa 5 Ausschnitte richtig übereinander und befestige dieselben provisorisch, indem man ihre breiteren Teile mit einem stark erhitzten, schmalen Modellierspatel durchsticht; dann glättet man die Stufen und verschmilzt die Ränder mit dem heifsen, breiten Spatel. Darauf werden wieder 5—6 Ausschnitte aufgelegt u. s. w. Man glaube nicht, wie dies manche thun, dafs ein Modellstück mit ungeglätteten Stufen »naturwahrer« sei, als ein ausgeglättetes.

Im Interesse des Einblicks in Hohlräume u. s. f. wird man das Modell häufig nicht in einem zusammenhängenden Stücke fertig stellen, sondern dasselbe lieber nach provisorischer Vereinigung und oberflächlicher Glättung in bestimmten Ebenen wieder in getrennte Stücke zerlegen. In anderen Fällen schneidet man »Fenster« ein, setzt »Stütz- und Verbindungsdrähte« an und was dergl. mehr ist. Über die rechtzeitige Entfernung der Brücken siehe oben.

Zuletzt glättet man mit dem heifsen Spatel, mit einem breiten, in Terpentin getauchten Pinsel, mit der Fingerbeere u. s. f. so weit wie möglich; ein glattes Modell, an dem die zufälligen Unebenheiten entfernt sind, läfst die charakteristischen Formen viel besser erkennen, als ein rauhes.

Ein Anstrich der verschiedenen Teile mit verschiedenen Temperafarben erhöht die Deutlichkeit sehr merklich.

Literatur zu Kapitel 9.

Born G. 83 und 88, Born G. und Peter K. 98, His W. 68 und 87, Kastschenko N. 86, 87 und 88, Peter K. 99, Strasser H. 86 und 87; soweit hier nicht aufgeführt, citiert bei Strasser 86 und Born-Peter 98; — ein letzter polemischer Aufsatz von G. Alexander in Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XV.

Digitized by Google

244. Tabelle der Termini technici.[1])

Ein Organ wird **fixiert, konserviert,** es braucht für die Regel nicht **gehärtet** zu werden; **Härtung** ist nur ausnahmsweise notwendig, z. B. für das Schneiden mit dem Rasiermesser. Nach der Fixierung wird das Objekt eventuell **ausgewaschen** und dann mit Alkohol **nachbehandelt,** um wasserfrei gemacht zu werden (nicht um gehärtet zu werden). Dann wird es mit Paraffin etc. **durchtränkt.** Die **Durchtränkung** gliedert sich in verschiedene Abschnitte; das Objekt mufs zuerst mit Xylol etc., dann mit Mischung, dann mit reinem Paraffin durchtränkt werden. Dies geschieht, indem das Objekt aus einer dieser Flüssigkeiten in die andere übertragen wird.

Dann wird das Objekt in eine Form **eingebettet,** dabei mufs es **orientiert** werden. Vor dem Schneiden am Mikrotom mufs das Objekt in den Objekthalter **eingespannt** werden, nachdem es auf einem Cylinder, Holzblock etc. **befestigt, aufgeschmolzen** ist. Dann wird es eventuell mit dem Orientierungsapparat orientiert werden. Je nachdem das Objekt mit Paraffin oder Celloidin durchtränkt war, erhält man **Paraffinschnitte, Celloidinschnitte.** Bei der **Weiterbehandlung** des Schnittes kann derselbe zunächst **aufgeklebt** werden, dann folgt die **Paraffinbefreiung** des Schnittes mit Xylol etc., dann die **Schnittfärbung,** wenn nicht **Stückfärbung** vorausging. (Durchgefärbt mufs sowohl der Schnitt wie das Stück werden.) Nach der Färbung wird **ausgewaschen,** eventuell **ausgezogen.** Die Färbung kann **Kernfärbung** sein, es kann dann mit weiteren Farben **nachgefärbt** werden (sog. Plasmafärbung). Man spricht dann von **Mehrfachfärbung.** Mehrfachfärbung mit nur zwei Farben nennt man **Doppelfärbung.** Endlich erfolgt der **Einschlufs** in Canadabalsam; der Einschlufs kann auch so geschehen, dafs man erst in Glycerin **einlegt** und dann **umrandet.**

---

[1]) In den Lehrbüchern etc. werden die technischen Termini in verschiedenem Sinne gebraucht, z. B. mufs der Ausdruck »einbetten« bei verschiedenen Autoren und oft bei ein und demselben Autor für alles Mögliche dienen. Da dies nun oft zu Mifsverständnissen Anlafs gibt, so stellen wir hier einige der häufigeren Termini, deren wir uns bedienen, und die wir zum allgemeinen Gebrauch vorschlagen, zusammen.

Digitized by Google

Spezieller Teil.

1. Kapitel.

Zelle.

245. Die Zelle im ganzen ist von Gewebe zu Gewebe verschieden. Es ist aber möglich, in den verschiedensten Zellen durch die gleichen Methoden ähnliche Dinge zur Anschauung zu bringen: z. B. Chromatin des Kernes, gewisse Strukturverhältnisse des Protoplasmas u. s. w.

246. Das Chromatin löst sich in starken Säuren, nicht aber in schwachen; es löst sich in Alkalien. Chromsäure-Salze affizieren das Chromatin bei längerer Einwirkung bedeutend. — Um das Vorkommen der Mitosen zu studieren, fixiere man die Stücke mit Sublimat, § 51, Pikrinsäure, § 59, Salpetersäure, § 58, und wende entweder Stückfärbung mit Hämatoxylin, § 199, oder Karmin, §§ 182 ff., 187, oder Schnittfärbung mit Hämatoxylin, §§ 189, 194, Karmin, §§ 182 f., 187, Safranin, § 206, an. Als Untersuchungsobjekte wähle man wegen der bedeutenden Gröfse der Elemente von den Wirbeltieren Amphibien, namentlich Quappen von Fröschen, Kröten, Tritonen. Noch günstiger, aber nicht so leicht zu bekommen, sind Embryonen von Salamandra mac. und atra. Man studiere Mitosen auch an Pflanzenzellen, z. B. in den Spitzen junger Wurzeln der Zwiebel. (Einsetzen in ein Hyacinthenglas.) Behandlung wie tierische Gewebe.

247. Hammer (91) sagt, dafs die Mitosen beim Menschen nach dem Tode nicht ablaufen, sondern durch Chromatolyse zu Grunde gehen, und dafs sich die achromatische Spindel lange erhält.

Digitized by Google

248. Die Methoden, die für die genauere Untersuchung der Mitosen am meisten geleistet haben, sind, auf lebensfrische Objekte angewandt: a) Fixierung mit Flemmingscher Lösung, § 43, mit nachfolgender Schnittfärbung mit Safranin, § 206 (Flemming); — b) die Rablsche Fixierung mit $^1/_{10}$—$^1/_8$%iger Platinchloridlösung, Auswaschen mit Wasser, Übertragen in Alkohol von allmählich steigender Konzentration, Färben mit Delafieldschem Hämatoxylin, § 194, Untersuchen in Methylalkohol (auch Wasser); — c) die Hermannsche Fixierung mit modif. Flemmingscher Lösung (§ 47) einige Tage bis eine Woche lang, Waschen mit fliefsendem Wasser, Übertragen in Alk. abs. auf einen Tag; aus dem Alkohol kommen die Stücke in rohen Holzessig auf 12—24 Stunden, dann wird wieder 24 Stunden gewaschen und in Alkohol übertragen. Färbung der Schnitte mit Safranin, § 206, resp. mit Safranin-Gram, § 622, ist zulässig, nicht aber absolut notwendig, da man auch ohne Färbung vieles sieht. — Die Methoden b) und c) zeigen auch deutlich einige Protoplasmastrukturen und c) mitunter besonders deutlich das Centrosoma. — d) Sublimat-Eisessig, siehe § 631.

Viele von den im Kapitel »Embryologische Technik« für Fixierung und Färbung von Eiern gegebene Vorschriften erweisen sich auch für die Zelle im allgemeinen als nützlich.

249. Um das Centrosoma, Spindelfäden, Lininfäden und Polstrahlen zu färben, empfiehlt Flemming folgende Methode: Fixierung etc. nach § 43: Schnitte oder dünne Lamellen werden in Safranin, § 206, 2—3 Tage gefärbt; kurzes Waschen in dest. Wasser, Übertragen in schwach mit HCl angesäuerten abs. Alkohol ($^1/_{1000}$), bis sich wenig Farbe mehr löst; kurzes Waschen mit dest. Wasser. Es werden die Schnitte nun 1—3 Stunden in eine sehr dunkle wässerige Gentianaviolettlösung übertragen, kurz mit dest. Wasser gewaschen und dann in eine konzentrierte wässerige Orangelösung gebracht, bis (wenige Minuten) die Schnitte anfangen, violett zu werden. Es wird kurz mit abs. Alkohol gewaschen, in Nelken- oder Bergamottöl übertragen und in Canadabalsam eingeschlossen. Auf das Abpassen der Zeit, wo Centralkörper und Spindeln gerade noch Farbe enthalten, kommt es an.

An Eiern von Ascaris megalocephala, die nur 2 oder 4 Chromosomen besitzen, treten chromatische und achromatische Bestandteile der Zelle viel elementarer hervor.

Digitized by Google

Für die Darstellung der Centrosomen verweisen wir ferner auf die Hämatoxylin-Eisenalaun-Methode M. Heidenhains, siehe § 200.

Als günstigstes Objekt, um die Centrosomen ungefärbt zu sehen, nennt Solger (89b) die Pigmentzellen (in der Kopfhaut der Frontal- und Ethmoidalregion des Hechtes). Flemmingsche Lösung oder Sublimat. Der Hecht wird vor der Tötung $^1/_2$ Stunde im Dunkel gehalten, damit die Pigmentkörnchen sich gleichmäfsig in der Pigmentzelle verteilen.

250. Für Darstellung sonstiger Protoplasmastrukturen heben wir technisch hervor:

Die Stücke werden mit Pikrinsäurelösungen oder schwach jodiertem Alkohol fixiert, mit Eisenhämatoxylin gefärbt (Vorbehandlung mit essigsaurem Eisenoxyd, kurzes Auswaschen, $^1/_2$ % wässerige Hämatoxylinlösung, siehe auch § 199) und sehr dünn $^1/_2$—1 μ geschnitten. Bei günstiger Beleuchtung, starken Vergröfserungen und in schwach lichtbrechenden Medien untersucht, zeigen sich gefärbte, wabige (alveoläre, schaumige) Strukturen des Protoplasmas: an tierischen Zellen, z. B. an Ovarial-Eiern der Knochenfische, Blutzellen des Frosches, Dünndarmepithel (Bütschli 92).

Belgische Forscher (Van Beneden und Neyt) gebrauchen mit Vorliebe und Erfolg entweder als Färbemittel allein, oder als Fixations- und Färbemittel Methylgrün — Eisessiglösung. Methylgrün wird in 2—3 %iger Essigsäure gelöst (Carnoy), nach der Färbung ($^1/_2$ Stunde) wird mit 2—3 %iger Essigsäure ausgewaschen und diese durch Glycerin substituiert.

251. Für Darstellung der Zellengranula bedient sich Altmann (94) folgender Methode: Fixierung in einer Mischung, welche durch Zusammengiefsen gleicher Volumina einer 5 %igen Lösung von Kaliumbichromat und einer 2 %igen Lösung der Überosmiumsäure erhalten wird. Die dem eben getöteten Tiere entnommenen Organstückchen kommen in diese Lösung, werden 24 Stunden darin belassen, dann in fliefsendem Wasser mehrere Stunden gewaschen und, nachdem sie einige Zeit nacheinander in Alkohol von 75 %, 90 %, 100 % gelegen haben, mit Hilfe des Xylols (zwischen absoluten Alkohol und Xylol wird Xylol 3 und abs. Alk. 1 Teil eingeschaltet) mit Paraffin durchtränkt und 1 bis 2 μ dick geschnitten.

Altmann klebt nach folgender Methode auf: Eine Lösung von 1 Guttapercha in 6 Chloroform (als Traumaticin in den Apotheken käuflich) wird für den Gebrauch mit dem 25fachen Volumen Chloroform verdünnt, die verdünnte Lösung über den Objektträger gegossen, abgetropft und der Objektträger nach dem Verdunsten des Chloroforms über der Gasflamme stark erhitzt. Auf solche vorrätig gehaltene Objektträger kommen die Paraffinschnitte und werden hier mit einer Lösung von

Digitized by Google

Schiefsbaumwolle in Aceton und Alkohol angepinselt. (2 g Schiefsbaumwolle in 50 ccm Aceton gelöst und hiervon 5 ccm mit 20 ccm Alkohol verdünnt.) Nach dem Anpinseln werden die Schnitte mit Fliefspapier stark an den Objektträger angedrückt und nach dem Trocknen angeschmolzen. Solche Schnitte können dann ohne Gefahr mit verschiedenen Lösungs- und Färbungsmitteln behandelt werden.

So aufgeklebte Schnitte werden mit Xylol von Paraffin befreit und in Alkohol übertragen. Dann wird eine kalt gesättigte und filtrierte Lösung von Anilin in Wasser hergestellt und in 100 ccm derselben 20 g Säurefuchsin gelöst. Von dieser Lösung bringt man eine Quantität auf den Objektträger und erwärmt denselben über freier Flamme, bis sich seine Unterfläche empfindlich heifs anfühlt und die Farbstofflösung dampft. Dann läfst man abkühlen und spült den Farbstoff mit einer Pikrinsäurelösung ab, welche durch Vermischen eines Volumens konzentrierter Pikrinsäurelösung in absolutem Alkohol mit 2 Volumina Wasser hergestellt ist. Dann giefst man eine neue Portion der Pikrinsäurelösung auf den Objektträger und erwärmt denselben. Dauer etwa 30—60 Sekunden (event. das Verfahren wiederholen). Da Xylol die Osmiumschwärzung extrahiert, so empfiehlt es sich, statt Xylol-Canadabalsam entweder Paraffinum liquidum nach Altmann oder abgedampften Canadabalsam zu gebrauchen (siehe § 157). Die Granula sollen scharf gefärbt hervortreten, das übrige dagegen keinen oder nur einen graugelblichen Farbenton zeigen.

252. Eine Methode (Altmann, 94), welche die »Reaktionsfähigkeit der Gewebe« in ihrem natürlichen Zustand konserviert und daher einen durchaus »universellen Charakter« hat, und vermittelst der selbst die subtilsten Formen so vollkommen erhalten werden wie auf keine andere Weise, sieht Altmann in folgendem Vorgehen: Man läfst frische Organstückchen gefrieren und trocknet dieselben in gefrorenem Zustande bei einer Temperatur von unter —20° C. über Schwefelsäure im Vakuum vollständig aus. Das Austrocknen dauert ein paar Tage, man erhält der Sicherheit wegen die Temperatur während dieser Zeit am besten nahe an —30° C., da bei —10° bis —15° die Objekte schrumpfen. »Austrocknen unterhalb der kritischen Temperatur.« Maschinelle Einrichtungen verdienen für dieses Verfahren den Vorzug. Die im Volumen unveränderten Präparate werden mit geschmolzenem Paraffin im Vakuum direkt durchtränkt. Mit dieser Methode ist unseres Wissens nicht weiter gearbeitet worden.

253. Altmanns (92) Methode der Darstellung des interglanulären Netzwerkes in der Zelle:

Mischung A:	Molybdänsaures Ammoniak	2,5
	Chromsäure	0,25
	Wasser	100

Digitized by Google

(je nach den Objekten wird die Chromsäure-Menge zwischen $^1/_4$—1 % variiert). Mit molybdänsaurem Ammoniak allein erscheinen die Zellen homogen, mit Zusatz von 0,5—1 % Chromsäure grobnetzig. — In der Mischung A läſst man die frisch eingelegten Stücke etwa 24 Stunden, dann übertrage man sie direkt in Alkohol, und nach einigen Tagen übertrage man dieselben in Paraffin. Färbung wie gewöhnlich, Hämatoxylin, Gentiana etc.

254. Nach Fischer (99, vergl. auch 93) liefern Niederschläge, welche sich aus sauren Eiweiſslösungen durch das Altmannsche Gemisch (s. § 251) erhalten lassen, dieselben Färbungen wie die Altmannschen Granula. Wenn man, statt nach der Altmannschen Vorschrift zu verfahren, zur simultanen Doppelfärbung greift (Gemisch aus Pikrinsäure und Säurefuchsin), so erhält man eine Inversion der Granulafärbung, indem sich die groſsen und mittleren Granula rein pikringelb, alle kleineren und kleinsten intensiv rot färben. Hieraus folgert Fischer, daſs die Altmannsche Färbung kein spezifisches Reagens auf Zellgranula ist.

Für dieses Kapitel citieren wir auſser den im Text gegebenen Literaturnachweisen die Arbeiten von Flemming (82, 91 a u. b 95), Hermann (93), Häcker (99).

2. Kapitel.

Epithelien und Endothelien.

255. **Frisch** werden die Epithelien durch leichtes Abschaben von der Oberfläche mit einem scharfen Messer gewonnen. Für die Entnahme der Pflasterepithelien ist die Mundhöhle zu empfehlen. Für die Beobachtung der Flimmerepithelien dienen als klassische Objekte die Gaumenschleimhaut der Frösche oder die Kiemenplättchen der Muscheln. Viele in der Harnblase und Kloake des Frosches stets anzutreffende Parasiten haben eine flimmernde Oberfläche.

Die Untersuchung geschieht zunächst in der physiologischen Kochsalzlösung, und man würde gut daran thun, sich über die Einwirkung der schwachen Säuren und Alkalien auf die Flimmerung zu orientieren (1 Kalilauge auf 1000 Wasser, Alkalien wirken erregend.) In den Präparaten des Mundspeichels trifft man neben den Epithelien Speichelkörperchen an; bei Untersuchung derselben achte man auf molekuläre Bewegung.

256. Dann werden Epithelien untersucht, indem man dieselben isoliert. Dies geschieht durch Einlegen von

Digitized by Google

Epithelfetzen, event. von Stücken mit Epithelien ausgekleideter Organe (z. B. Darm, Trachea) in Isolierungsflüssigkeiten. Nach verschiedener Zeit können die Zellen durch Schütteln oder Zupfen mit Nadeln isoliert werden. Untersucht kann in der Isolierungsflüssigkeit werden oder aber, indem man Glycerin zusetzt, färbt (einen Tropfen Pikrokarmin am Rande des Deckgläschens zufliefsen lassen) und umrandet. Zu den besten **Isolationsmitteln** für Epithelien gehört:

257. Der sogenannte $^1/_3$Alkohol von Ranvier (28 Alk. absol. und 72 Wasser). Nicht allzugrofse Fetzen eines frischen Epithels werden in wenig Flüssigkeit 12 bis 24 Stunden belassen, und es erfolgt die Isolation in der Regel schon durch blofses Schütteln oder aber durch Zupfen mit Nadeln auf einem Objektträger. Die Cilien der Flimmerepithelien werden erhalten, und die nachträgliche Färbung auf dem Objektträger ist zulässig.

Als weitere Isolationsmittel für Epithelien führen wir an:

258. Jodserum von M. Schultze (siehe § 13).

259. Osmiumsäure 1 auf 1000.

Kleine Stücke werden in dieser Flüssigkeit 24 Stunden und mehr belassen, mit Wasser gewaschen und im Wasser selbst oder in Glycerin zerzupft.

260. Sehr schwache Chromsäurelösung $^1/_{10}$%ig. Einwirkung 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchen Kampfers.

261. Sehr schwache $^1/_2$ bis 1 ‰ige Kalium- und Ammon.-bichrom.-Lösung. Einwirkung mindestens 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchens Kampfer.

262. Mit starken Kochsalzlösungen, bis 10 %, erzielt man an cylindrischen Epithelien Isolationen, und es erscheinen dabei an den basalen Teilen lange, fadenförmige, zuweilen sich verzweigende Fortsätze.

263. Ewald (97) isoliert Schleimhautepithelien mit Ranviers Drittelalkohol 24 Stunden, fixiert mit $^1/_2$%iger Osmiumsäure und wäscht unter Abhebern (s. § 264), Zugiefsen von Wasser, Absitzen lassen und wieder Abhebern u. s. f. aus. Man kann in derselben Weise mit Alaunkarmin oder Pikrokarmin färben und auswaschen und in 50%igem Alkohol für späteren Einschlufs in Glycerinleim aufheben. Für Flimmerzellen ist die Maceration in Müllerscher

Digitized by Google

Flüssigkeit besser als Drittelalkohol. Froschgaumen 24 Stunden isolieren, wie oben mit $^1/_3$%iger wässeriger Hämatoxylinlösung färben, wie oben unter Abhebern, Auswaschen und Einschliefsen.

264. Bei Dr. Mays' Heber, welchen Ewald (97) empfiehlt, ist der in Flüssigkeit versenkte kürzere Heberschenkel am unteren Ende nochmals nach oben umgebogen und dann kurz über der Biegung abgeschnitten, so dafs die freie Öffnung des Hebers nach oben gerichtet ist. Mit einem derartigen Heber kann die Flüssigkeit fast bis zum letzten Tropfen, ohne irgend etwas vom Bodensatz mitzunehmen, abgehebert werden.

265. Bei der Beobachtung der Epithelien oder Endothelien von der Fläche frisch sieht man die Zellgrenzen entweder gar nicht oder sehr undeutlich. Um diese hervortreten zu lassen, bedient man sich der sogenannten **Versilberungsmethode** (Ranvier [68 und 89]).

Dünne frische Membranen, Mesenterien, Perikardiumstücke, aufgeschnittene dünne Gefäfse, aufgeblasene Lungenalveolen u. s. w. werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit abgespült, um die anhaftenden Blutkörperchen etc. fortzuschwemmen. Sie werden alsdann in eine ca. $^1/_2$%ige wässerige Höllensteinlösung übertragen und so lange darin belassen, bis die Stücke anfangen, undurchsichtig zu werden. Ist das der Fall, so werden die Stücke aus der Höllensteinlösung in viel destilliertes Wasser übertragen und an einem von der Sonne beschienenen Orte so lange stehen gelassen, bis die Stücke anfangen, sich zu bräunen. Daraufhin werden sie noch einige Male mit destilliertem Wasser tüchtig abgespült und entweder in Glycerin und ähnlichem untersucht, oder aber allmählich in absoluten Alkohol übertragen, wobei für eine geeignete Spannung der Membranen (z. B. Ausspannen mit Nadeln auf einem Kork) Sorge zu tragen ist. Xylol, Canadabalsam. An solchen Stücken erscheinen, wenn die Versilberung gelungen ist, die Zellgrenzen, resp. die Kontaktflächen der Zellen schwarz, der Zellleib und die Kerne derselben gar nicht oder wenig tingiert.

Eine nachträgliche Färbung der Kerne, etwa mit Boraxkarmin oder Hämalaun, ist zulässig. Sie wird am besten nach dem Behandeln mit Alkohol eingeschoben.

266. 1844 hat C. Krause (44) an der Epidermis mit Silbernitrat Zellgrenzen dargestellt und in einer Dissertation, die unter Coccius 1854 erschienen ist, hat Flinser darauf aufmerksam gemacht, dafs nach der Ätzung des Hornhaut-

Digitized by Google

epithels mit einem Höllensteinstift Niederschläge zwischen den Zellen entstehen.

267. Der Kontakt von gewöhnlichen Blechspateln, eisernen Nadeln, Pincetten etc. mit Silberlösungen ist auf das sorgfältigste zu vermeiden, und man kann sich leicht mit improvisierten Instrumenten helfen, die man aus Holz, Horn, Borsten, Stacheln etc. zusammenbaut. Zwei Igelstacheln würden ohne weiteres Nadeln ersetzen, zwei geeignet zugeschnittene Stückchen Holz oder Horn, in der Verlängerung einer gewöhnlichen Pincette festgebunden, eine breitere dünne Lamelle aus hartem Holz werden in diesem Falle im allgemeinen zum Ziele führen.

268. Als Lösungsmittel für Silbernitrat kann statt des Wassers eine $^1/_2$ %ige Osmiumsäure oder eine 2 bis 3 %ige Salpetersäure genommen werden. Man lasse die Flüssigkeit etwa $^1/_4$ Stunde einwirken, wasche mit destilliertem Wasser längere Zeit, etwa $^1/_2$ Stunde, ab, übertrage in Spiritus von 70%, färbe eventuell nach (Hämatoxylin oder Karmin) und überführe in Canadabalsam nach bekannten Regeln.

269. Behandelt man die überlebenden Gewebe: Mesenterien, Sehnen, kleinere Nerven u. s. w., mit Methylenblau-Kochsalzlösung (s. § 477 ff.), so kann man Zellgrenzen von Endothelien (resp. Sehnenzellen, Ranviersche Kreuze) nebenbei zur Darstellung bringen.

270. Das Schlufsleistennetz stelle man nach § 200 dar.

271. Um Intercellularbrücken darzustellen, empfahl Kolossow (92): Feine Membranen, kleinste Gewebsstücke (auch vorher fixierte Stücke), kommen auf kurze Zeit (etwa $^1/_4$ Stunde) in eine $^1/_2$—1%ige Osmiumsäure oder in

Alkohol	50	ccm
Wasser	50	»
Acid. nitr. conc.	2	»
Osmiumsäure	1—2	g

und dann in eine 10%ige wässerige Tanninlösung oder den sog. Entwickler:

Wasser	450
85%iger Alkohol	100
Glycerin	50
Tannin puriss.	30
Pyrogallussäure	30.

(Zur Darstellung des Entwicklers werden 30 g Tannin in 100 Wasser gelöst, nach 1 oder 2 Tagen wird filtriert, zum Filtrat gibt man 30 g Pyrogallussäure, die in 100 ccm Wasser gelöst sind, und darauf die übrige Quantität Wasser, den Alkohol und das Glycerin.) Im Entwickler verbleiben die

Digitized by Google

Stücke einige Minuten, werden dann 5 Minuten in einer schwachen Osmiumsäure abgespült, Waschen mit destilliertem Wasser, Alkohol etc.

272. Nunmehr empfiehlt Kolossow (98) folgende Methode: Nachdem die Blutgefäfse der zu untersuchenden Organe mit 0,6% Kochsalzlösung ausgespült worden sind, injiziere man in die Blutgefäfse die Mischung: ½ % Osmiumsäurelösung (in Wasser) 100 ccm, ½—1 ccm einer 30%igen Salpetersäure, 1 ccm Eisessig, Kalium nitricum 10—12 g.

Die in kleine Stücke zerschnittenen Organe kommen auf 16—24 Stunden in ½ %ige Osmiumsäure und auf ebensolange in eine 10 %ige zu wechselnde (bis die Schwärzung schwindet) Tanninlösung. Wasser, Alkohol von 70 %, 85%, 96%, abs.; Schneiden in Paraffin. Färbung nicht nötig.

Eine ganz analoge Methode hat Woronin (98) vorgeschlagen.

3. Kapitel.

Blut und Lymphe.

273. Die roten Blutkörperchen können direkt untersucht werden. Man gewinnt einen Blutstropfen, wenn man z. B. sich selbst in die Fingerbeere einsticht; bei passendem Druck auf den Finger pflegt der Tropfen hervorzutreten und kann auf den Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden.

Will man die Geldrollenanordung der Blutkörperchen erhalten, so mufs man einen gröfseren Tropfen entnehmen.

Hat man nicht genügend rasch operiert, so findet man bereits alle Blutkörperchen hochgradig verändert infolge der Verdunstung u. s. w. Bessere Resultate bekommt man, wenn man über die Stichwunde zwei aneinandergedrückte Deckgläser hält und den Tropfen nun auspreſst. Er gerät ohne weiteres in den kapillaren Raum und verbreitet sich dort in dünner Schicht. Statt zweier Deckgläser kann man natürlich auch Objektträger und Deckglas in einer passenden Weise kombinieren.

Ist das Präparat fertig, so sorge man dafür, dafs keine weitere Luft zu dem untersuchten Tropfen zutrete, indem man das Deckgläschen z. B. mit Öl umrandet.

274. Hat man genügend unveränderte rote Blutscheiben studiert, so untersuche man zunächst einen Blutstropfen an einem ohne besondere Vorsichtsmafsregeln angefertigten Präparate. Die Blutkörperchen werden zackig, »stechapfel-«, »morgensternförmig«. Man setze anderen Präparaten Wasser

Digitized by Google

zu; man sieht alsbald, dafs die Blutkörperchen, wo sie vom Wasserstrom getroffen werden, sich zunächst aufblähen. Dann löst sich im Wasser der Blutfarbestoff (Hämoglobin), die Blutkörperchen werden blafs und entziehen sich mehr und mehr dem Auge des Beobachters. (Schatten.)

275. Man setze einem anderen Präparate verdünnte Essigsäure zu; die roten Blutkörperchen blähen sich im Momente der Berührung mit der Essigsäure auf, werden zunächst etwas dunkler, um dann rasch den Farbestoff abzugeben.

276. Man vergesse nicht, auch Galle desselben Tieres zuzusetzen, namentlich weil man dabei eine direkte Lösung der Blutkörperchen beobachten kann; sie blähen sich auf und explodieren förmlich.

277. Die Rindenschicht der Erythrocyten ist für Kochsalzlösungen nicht durchgängig (Schrumpfung), wohl aber für Harnstoff.

Die Erythrocyten sind weiter impermeabel für: Natrium-, Kalium-, Calcium-, Baryum-, Strontium- etc. Salze, ferner für Dextrose und Inosit; sie schrumpfen in diesen Substanzen. Permeabel sind sie für Ammoniumchlorid, Ammoniumacetat, Ammoniumoxalat, Methyl-, Aethylalkohol, Glycerin, Acetamid, Biuret, Pyridin (Cohnstein, 96).

278. Für Untersuchung der Blutplättchen braucht man die Afanassiewsche (84) Flüssigkeit: 0,6 des trockenen Peptons, gelöst in 100 physiologischer Kochsalzlösung. Zu dieser Flüssigkeit wird im Verhältnis von 1 : 10000, ja sogar 1 : 20000 Methylviolett hinzugesetzt. Die Mischung wird gekocht. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit wird auf der Haut, etwa der Fingerbeere, die vorher gut gereinigt worden ist, deponiert, unter derselben ein Nadelstich gemacht, so dafs das Blut in die Flüssigkeit direkt eindringt, ohne mit Luft in Berührung zu kommen. Diese Flüssigkeit konserviert auch die roten und die weifsen Blutkörperchen.

Da diese Flüssigkeit leicht fault, so müssen die Gefäfse, in welchen sie aufbewahrt wird, vorher sterilisiert, die gekochte Flüssigkeit filtriert und eine unbedeutende Menge von Sublimat oder Karbolsäure zugesetzt werden.

Verwendet man in analoger Weise 1 %ige Osmiumsäure (ohne Farbenzusatz), so werden die Blutplättchen ebenfalls gut erhalten.

279. Zahlreiche als Fixationsmittel angewandte Flüssigkeiten rufen in den Blutkörperchen gröbere Struktur- und Formveränderungen hervor, z. B. die Hayemsche Lösung (Kaiserling und Germer, 93).

Digitized by Google

280. Ewald (97), pag 257 ff, empfiehlt für Blutkörperchen-Untersuchung Osmiumsäure: rote Blutkörperchen nehmen darin olivengrüne Farbe an (für Amphibien und Reptilien $^1/_2$ %ig und $^1/_2$ % Kochsalz, für Säugetiere $^1/_2$ %ig und 0,6—0,7 % Kochsalz), 3—4 Tropfen Blut auf 10 ccm Flüssigkeit. Auf die Einschnittstelle kommt Flüssigkeit, damit das Blut garnicht mit Luft in Berührung kommt, Umrühren. Nach 24 Stunden bringt man den Bodensatz in ein Probierröhrchen, füllt mit Wasser auf, läfst absitzen und hebert mit dem von Mays eingeführten Heber (siehe § 264) die Flüssigkeit ab und wiederholt dies; für kernhaltige Blutkörperchen 24 Stunden Alaunkarminlösung zusetzen, dann wieder abhebern und 50 %igen Alkohol zusetzen, in welchem sich die Blutkörperchen jahrelang (für Kurszwecke) halten. Einschliefsen entweder durch abs. Alkohol, Nelkenöl, Canadabalsam in derselben Weise (Heber) oder in Glycerin.

281. Um **rote Blutkörperchen in Schnitten** (in den Gefäfsen, fixierten Objekten entnommen) zu erkennen, gibt es eine Reihe von Färbemethoden.

282. Bei der Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin (siehe § 220) nehmen die roten Blutkörperchen eine eigentümlich leuchtend rote Farbe an, welche dieselben sofort als solche erkennen läfst.

283. Wissozky (77) hat das Eosin als Reagens auf Hämoglobinhaltige Zellen empfohlen in folgender Zusammensetzung:

Eosin	1
Alaun	1
Alkohol	200.

Noch besser gelingt diese Reaktion, wenn man die Blutkörperchen vorher ein paar Minuten mit einer 1 %igen Osmiumsäure behandelt (Thanhoffer, 77).

284. Für Sublimatpräparate empfiehlt R. Heidenhain (88) die Ehrlich-Biondische Methode (siehe § 231), mittels welcher sich Blut orange färbt. — Sublimat-Kochsalz fixiert die roten Blutkörperchen relativ gut (besser wie Sublimat in Wasser gelöst) und löst das Hämoglobin nur wenig. H. F. Müller.

285. Zum Nachweis der **weifsen Blutkörperchen** im Blut der Säugetiere setzt man einem Blutstropfen unter dem Objektträger einen Tropfen Essigsäure zu. Nachdem die roten Blutkörperchen undeutlich geworden sind (siehe § 274), treten die Kerne der weifsen deutlich hervor.

286. Amöboide Bewegungen der weifsen Blutkörperchen der Säugetiere kann man im Präparate sehen, wenn

Digitized by Google

man dieselben einer Temperatur aussetzt, die etwa der Körpertemperatur entspricht; dies geschieht mittels des Wärmetisches. Dabei muſs man rasch arbeiten. Bei gewöhnlicher Temperatur kann man amöboide Bewegungen der weiſsen Blutkörperchen von Amphibien (Frosch, Salamander) beobachten. Noch ausgiebigere Bewegungen sieht man an der Lymphe des Fluſskrebses.

287. Um mikroskopische Präparate einer andauernden, bestimmten höheren Temperatur aussetzen zu können, wurden eine Reihe von Apparaten, sogenannte erwärmbare Objekttische, konstruiert. Ein einfacher und wohlgeeigneter ist der von M. Schultze (65) angegebene. Derselbe besteht aus einer Tischplatte von Messing, welche auf dem Objekttisch des Mikroskops durch Klammern befestigt werden kann. In der Mitte hat dieselbe eine auf das Loch des Tisches passende Öffnung, um die Lichtstrahlen durchzulassen. Ganz in der Nähe dieser Öffnung ist ein Thermometer so befestigt, daſs man stets die Temperatur des Tisches und damit des darauf liegenden Objektes ablesen kann. Seitlich läuft der Messingtisch in zwei Arme aus, unter welche Spirituslampen gestellt werden können. Durch Leitung wird so dem Tisch Wärme zur Erzeugung der gewünschten höheren Temperatur zugeführt. Es gibt moderne Apparate, welche handlicher sind und exakter arbeiten.

288. Einen indirekten Beweis der amöboiden Bewegung der Leukocyten erhält man, wenn man ein kleines Stückchen Holundermark in den Lymphsack (am Rücken unter der Haut) eines Frosches bringt und die Wunde vernäht. Nach 24 Stunden tötet man das Tier, fixiert das Holunderstückchen, durchtränkt es mit Paraffin, schneidet und färbt es. Man findet dann dasselbe durchzogen von Leukocyten.

289. Um die roten oder weiſsen Blutkörperchen dauernd aufzuheben, empfiehlt es sich, eine sehr dünne, auf dem Objektträger ausgebreitete Blutschicht mit Osmiumsäuredämpfen zu räuchern (siehe § 39).

290. Die Ausbreitung des Blutstropfens auf dem Objektträger resp. Deckgläschen geschieht entweder, indem man einen frisch entnommenen Tropfen Blut sich zwischen zwei aufeinandergelegte Deckgläschen durch Kapillarität einsaugen läſst und dann die Gläschen auseinanderzieht, oder indem man einen Tropfen Blut direkt auf dem Objektträger, etwa mit einem Glasstabe, ausstreicht. Bei einiger Übung erzielt man gute Resultate, wenn man bei Untersuchung von Tierblut z. B. die Herzspitze mit der Pincette faſst, abschneidet und nun mit derselben das Blut auf Objektträger in dünner Lage ausstreicht.

Digitized by Google

291. Eine rohe Methode, die mitunter zu guten Resultaten führt, ist die folgende: Eine möglichst dünne Schicht (s. § 290) frischen Blutes wird auf einem Objektträger an der Luft getrocknet und mehreremal sehr rasch über eine Spirituslampe gezogen, mit einem Deckglase bedeckt, das letztere umrandet (siehe § 162) und so als Präparat aufgehoben. **Trockenpräparate.**

292. So behandelte Präparate kann man noch nachträglich färben, indem die Blutkörperchen durch die Gerinnung des im Serum enthaltenen Eiweifses (Serumalbumin) genügend auf dem Objektträger angeklebt sind, um die erforderlichen Operationen zu gestatten.

Sehr dankbar erweist sich hier die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und nachträglich (oder zuvor) mit Eosin.

293. Eine sehr gute Methode zur Herstellung von **Blutpräparaten** besteht darin, dafs man Blut auf dem Objektträger möglichst dünn ausbreitet (s. § 290) und dann rasch den Objektträger auf 10 Minuten in eine **konzentrierte Sublimatlösung** in physiologischer Kochsalzlösung (s. § 53) steckt. Dann wird mit Wasser, welches mehrmals gewechselt wird, abgewaschen. Es kann aus dem Wasser direkt in die Farbe übertragen oder Alkohol eingeschaltet werden. Diese Methode fixiert Blut- und Lymphkörperchen relativ gut und gestattet, indem sie gleichfalls anklebt, eine Reihe von Doppelfärbungen (z. B. Hämatoxylin-Eosin, Methylgrün-Eosin resp. statt Eosin Orange u. a. m.).

294. Nach Ehrlich (91) sollen die Blutpräparate vor der Färbung einer Temperatur von 120° unterworfen werden, eine Temperatur, die man nicht ohne spezielle Vorrichtungen erlangen kann. Diese Vorbehandlung soll aber nach Nikiforoff vollkommen das Behandeln mit einer Mischung von absolutem Alkohol und Äther zu gleichen Teilen auf 1—2 Stunden ersetzen. (Alkohol soll ganz wasserfrei sein, was man mit geglühtem Kupfervitriol [siehe § 74] erzielen kann.) Nun werden die Präparate an der Luft getrocknet, und es kann weiter nach Ehrlich gefärbt werden, und zwar mit demselben Erfolge.

295. Ehrlich hat Zellen mit granuliertem Zelleib nach ihrem Färbungsvermögen mit Anilinfarben (vergleiche Ehrlichs Klassifikation der Anilinfarben in § 204) in verschiedene Gruppen eingeteilt, die er α—ε benennt. Dieselben sind folgende:

296. 1. Eosinophile oder acidophile Zellen mit α-Granulationen kommen vor in Blut, Lymphe und Geweben. Diese charakterisieren sich durch ihre Verwandtschaft zur grofsen

Digitized by Google

Reihe der sauren Teerfarbstoffe, d. h. solcher, in denen die Säure das färbende Prinzip darstellt.

In erster Linie gehört hierher Eosin.

Man färbt entweder in in Glycerin gesättigtem Eosin (resp. Indulin, oder gesättigter wässeriger Orangelösung, oder Eosin-Glycerin-Indulin) 12 Stunden, Spülen mit Wasser, Trocknen, Canadabalsam. — Granula purpurrot. — Oder: zu Ehrlichs Hämatoxylin (s. § 195) kommt 1 g oder 0,5 g Eosin hinzu. Die Flüssigkeit läfst man vor dem Gebrauche 3 Wochen im Lichte stehen; sie färbt in einigen Stunden, Spülen in Wasser — Kerne blau, Granula leuchtend rot.

297. 2. Zellen mit β-Granulationen (amphophile, indulinophile) tingieren sich in sauren und basischen Farben. Sie kommen vor im Blut von Meerschweinchen, Kaninchen und Vögeln. — Darstellung: Gesättigte Lösung von Eosin, Naphthylamingelb, Indulin in Glycerin; färbt, auf trockene Präparate angewandt, Hämoglobin gelb, Kerne schwarz, α-Granulationen rot, β-Granulationen schwarz.

298. 3. Zellen mit γ-Granulationen und »Mastzellen« färben sich mit allen basischen Farbstoffen, sie kommen vor im Bindegewebe (Mastzellen) und im Blut. Ehrlich färbt sie mit Dahlia in gesättigter Lösung in: Acid. acet. glac.: 12,5, Alkohol absol. 50, Aq. dest. 100 an getrockneten oder in Alkohol mindestens 24 Stunden fixierten Stücken entnommenen Schnitten oder nach folgender Methode:

299. Alaun-Karmin-Dahlia (Westphal 80) wird auf Schnitte angewandt, welche mindestens eine Woche lang in Alkohol fixiert worden sind:

Karmin	2 g
destill. Wasser	200 ccm
Alaun	2 g.

Das Ganze wird $^1/_4$ Stunde lang gekocht, filtriert (Partsch-Grenacherscher Karmin) und 1 ccm Karbolsäure hinzugesetzt. Zu dieser Karminlösung werden 200 ccm gesättigte Dahlialösung in absolutem Alkohol, 100 ccm Glycerin und 20 ccm Eisessig hinzugefügt. Das Ganze wird umgerührt und einige Zeit stehen gelassen. In dieser Flüssigkeit beläfst man die in Alkohol fixierten Stücken entnommenen Schnitte 24 Stunden und länger und überträgt sie dann auf ebenso lange Zeit in absoluten Alkohol. Die Schnitte entfärben sich, nur die Kerne behalten etwas von der rötlichen Farbe, es bleiben aber intensiv blau die Granulationen der Mastzellen (auch Knorpelgrundsubstanz). Material: Interlobuläres Bindegewebe der Leber, Darm etc.

300. 4. Zellen mit δ-Granulationen (basophile) Ehrlichs; es sind sehr feine Granula, die in mononukleären Leukocyten des menschlichen Blutes vorkommen. Sie werden an erhitzten und unerhitzten Präparaten mit wässeriger konz. Methylenblaulösung dargestellt; sie sind noch wenig studiert.

Digitized by Google

301. 5. Neutrophile Granulationen (ε-Granula) (in mehrkernigen Leukocyten des menschlichen Blutes, auch Eiters) an getrockneten Präparaten. Darstellung des neutralen Farbstoffs nach Ehrlich: 5 Volumina einer gesättigten Säurefuchsinlösung in Wasser, setze unter Umrühren 1 Volumen einer starken wässerigen Methylenblaulösung und 5 Volumina Wasser zu, lasse einige Tage stehen und filtriere. Man lasse die Farbe 2—5 Minuten einwirken, spüle kurz mit Wasser ab, mit Fliefspapier absaugen, trocknen, Canadabalsam. Rote Blutkörperchen werden dann rot, ε-Granulationen violett, α leuchtend purpurn.

Diese Zellen stammen als mononukleäre aus Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark und gehen im Blut in polynukleäre über. (Mononukleäre Leukocyten mit ε-Granula im cirkulierenden Blute nur bei myelogener Leukämie.) Färbt man mit der Biondischen Lösung (s. § 231) wenige Minuten so wird Hämoglobin gelb, α-Granulationen rot, ε-Granulationen grün.

302. R. Heidenhain (88) empfiehlt die von ihm modifizierte Biondi-Ehrlichsche Färbung (s. § 231) zur Unterscheidung folgender Arten von Wanderzellen in Schnitten:

1. Zellen mit einem sehr kleinen, fast farblosen Protoplasmaleibe,
2. mit gröfserem hell-rosa gefärbtem Protoplasma,
3. Körnchenzellen,
4. Zellen mit intensiv dunkel-blaugrünem Kern und intensiv dunkelrotem Protoplasma (nach der Annahme Heidenhains untergehende Formen).

303. Plehn (90) untersucht Blut zwischen zwei Tropfen Paraffinum liquidum (erst ein Tropfen, darauf Blut, darauf zweiter Tropfen, Deckgläschen).

304. Um die Hämoglobin- (Blut-) Krystalle (vergleiche darüber C. B. Reichert [49 b]) herzustellen, verfahre man folgendermafsen: man entnehme einem frisch getöteten Tiere, Pferde, Meerschweinchen, etwas Blut und defibriniere es durch Schlagen oder durch Schütteln mit Quecksilber. Das so defibrinierte Blut wird mit Schwefeläther, welchen man tropfenweise zusetzt, längere Zeit geschüttelt, bis die bekannte Lackfarbe auftritt. Dieses lackfarben gewordene Blut darf unter dem Mikroskop keine intakten roten Blutkörperchen mehr zeigen. Der rote Blutfarbestoff ist gelöst. So defibriniertes und lackfarben gewordenes Blut wird in einem flachen Gefäfs auf 12 bis 24 Stunden auf Eis gestellt. Wenn man nun einen Tropfen auf den Objektträger bringt, $^1/_2$ Stunde liegen läfst (man kann die Prozedur dadurch abkürzen, dafs man den Objektträger gelinde erwärmt), so fängt der Tropfen an zu trocknen, und zwar zunächst am Rande, wo sich ein dunkler, fester Ring bildet. Bedeckt man den Tropfen mit einem nicht allzugrofsen Deckglase, so fangen

Digitized by Google

zunächst in der unmittelbaren Nähe des Ringes und an demselben zahlreiche Krystalle sich zu bilden an, deren Entstehen man unter dem Mikroskop auch mit starker Vergrößerung direkt beobachten kann.

Das Anfertigen eines Dauerpräparates ist nicht lohnend wegen der Kompliziertheit des hierbei einzuschlagenden Verfahrens.

Man kann diese Krystalle in dickem Canadabalsam sich bilden lassen. Solche Krystalle halten sich monatelang.

305. Schließt man defibriniertes Blut hermetisch in eine Glasröhre, läßt sie in einem Thermostat (40° C.) zwei bis drei Tage liegen, zerbricht das Gläschen und läßt das so behandelte Blut in eine flache Schale ausfließen, so bilden sich bald mit bloßem Auge sichtbare Hämoglobinkrystalle (Gscheidlen 76).

306. Man nehme einen Tropfen Blut und verreibe denselben mit einem ebenso großen Tropfen einer Kochsalzlösung (auf die Konzentration kommt es nicht an), etwa mit einer Nadelspitze, sorgfältig. Dann erwärme man vorsichtig, bis ein trockener rostbrauner Rückstand verbleibt, bedecke diesen mit einem Deckglase, lasse Eisessig zufließen und bringe durch Erwärmen den Eisessig ein paarmal zum Kochen, wobei darauf zu achten ist, daß das Deckgläschen nicht abspringt. (Die Prozedur des Aufkochens wird wiederholt, indem man die verdunstete Flüssigkeit [Eisessig] durch eine frische ersetzt.) Ist der Eisessig verdunstet, so kann man direkt Canadabalsam unter das Deckgläschen zufließen lassen. Es haben sich zahllose braunschwarze Krystalle gebildet, welche in Canadabalsam dauernd aufgehoben werden können. Es sind die **Teichmannschen** (53) **Hämin krystalle** (Hämin = salzsaures Hämatin).

Diese Krystalle sind fast unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Ammoniak, Eisessig, verdünnter Schwefel- und Salpetersäure; sie lösen sich in Kalilauge.

Als Verunreinigung kommen amorphe Hämatinmassen und Kochsalzkrystalle in solchen Präparaten vor.

307. Man kann gelegentlich noch ein Derivat des Blutfarbestoffes in apoplektischen Herden, in den gelben Körpern der Eierstöcke u. s. w. antreffen. Es sind rotgelbe Massen, die aus fuchsroten, rhombischen, eisenfreien **Hämatoidinkrystallen** bestehen (Virchow, 47).

Man kann sie in Canadabalsam aufbewahren.

308. Krystallhaltige Blutkörperchen erhält man bei Salamanderblut, wenn man 3—4 Tropfen in einem Uhrschälchen mit 10 ccm verdünnter, 0,45 %iger Kochsalzlösung auffängt, 24 Stunden stehen und absitzen läßt; sie können dann in der von Ewald (97) in § 263 f. angegebenen Weise durch 1 %ige Osmiumsäure (Zusatz einer gleichen Menge zur Kochsalzlösung) konserviert werden. In derselben Weise lassen sich nach der Rolletschen Methode durch Gefrieren und Wiederauftauen

Digitized by Google

erhaltene krystallhaltige Säugetier-Blutkörperchen (am besten Hundeblut) mit Osmiumsäure konservieren.

309. Um Fibrin auf dem Objektträger darzustellen, lasse man einen Blutstropfen ein paar Stunden in einer feuchten Kammer ruhig liegen, bedecke das Ganze mit einem Deckglase und wasche mit Wasser ab, indem man von der einen Seite des Deckglases Wasser zusetzt und auf der anderen Seite mit Fliefspapier absaugt. Sind die meisten Blutkörperchen weggeschwemmt, setzt man Jod-Jodkalium hinzu, wodurch sich die Fibrinfädchen und -Netze intensiv gelb bis braun färben.

310. Fibrinfärbung (Neelsen, Grundrifs der path.-hist. Technik). Methode von Weigert. Härtung am besten in Alkohol. Die Schnitte kommen auf mindestens 10 Minuten in konz. Anilinwasser-Gentianaviolettlösung, dann werden sie flüchtig in 0,6 % Kochsalzlösung abgespült und in einem Schälchen (oder bei empfindlichen Schnitten besser auf dem Objektträger) mindestens 10 Minuten lang mit Jodjodkalilösung (1 : 2 : 300) oder gesättigter Lösung von Jod in 5 % Jodkalilösung behandelt, dann auf dem Objektträger ausgebreitet, durch Abtupfen mit Fliefspapier möglichst getrocknet und so lange mit mehrfach gewechseltem Anilinöl (2 Teile auf 1 Teil Xylol) entfärbt, bis sie durchsichtig geworden sind und die Färbung distinkt erscheint. Das Anilinöl wird durch Xylol sorgfältig entfernt, dann wird in Balsam eingeschlossen.

311. Fibrinfärbung nach Kockel (99). Die in Paraffin eingebetteten Stücke (56° C. Schmelzpunkt wird empfohlen!) werden dünn geschnitten (5 μ), nach der in § 146 angegebenen Methode (mit Eiweifsglycerin) auf dem Objektträger befestigt, von Paraffin befreit und durch Alkohol und Wasser in eine 1—5 %ige wässerige Chromsäurelösung für 5—10 Minuten übergeführt. Nach kurzem Waschen in destilliertem Wasser (Sekunden! Die Schnitte dürfen ihre gelbe Farbe nicht verlieren) kommen die Schnitte auf 15—20 Minuten in die ursprüngliche Weigertsche Hämatoxylinlösung (1,0 Hämatoxylin, Alc. abs. 10,0, Aq. dest. 90,0, nach Lösung wird 1 ccm konz. wässerige Lithioncarbonatlösung hinzugefügt). Mit Wasser abgespülte Schnitte werden ca. 1 Minute mit konz. wässeriger Alaunlösung (etwa 10 %), bis sie dunkelblau sich färben, behandelt, um wieder mit Wasser ausgewaschen zu werden. Jetzt wird 3—6 Minuten in Weigert'scher Borax-Ferricyankaliumlösung (Borax 2,0, Ferricyankalium 2,5, dest. Wasser 100,0), die mit etwa der dreifachen Menge Wasser verdünnt wird, differenziert. Auswaschen in Wasser. Färbung,

Digitized by Google

um die Kerne hervorzuheben, etwa mit Alaun-Karmin. Einschliefsen sofort in Canadabalsam. Diese Kockelsche Methode färbt zwar nicht Fibrin ausschliefslich, sondern auch (wie mitunter die Weigertsche) Muskel (glatte zeigen fibrilläre Streifung), Blutkörperchen, Gallenkapillaren etc.; dieser Umstand gibt aber zu keiner Verwechselung Veranlassung.

312. Man kann den Blutkreislauf an zahlreichen Objekten studieren. Die bequemsten sind die im Sommer so zahlreich zu habenden Kaulquappen der Frösche und Kröten (auch Tritonenlarven). Der dicke Körper und der Kopf solcher Quappen wird in mit Wasser getränktes Fliefspapier eingewickelt, und das Tier so auf den Objektträger gelegt. Die Quappe bewegt sich zunächst lebhaft, fängt aber bald an asphyktisch zu werden und beruhigt sich. In dünnen Membranen, z. B. auslaufenden Rändern und der Spitze des Schwanzes, kann man schon mit mittelstarker Vergröfserung den Blutkreislauf beobachten. Beim erwachsenen Frosch können zahlreiche Stellen für die Beobachtung des Blutkreislaufes zugänglich gemacht werden.

313. Um Frösche unbeweglich zu machen, pflegt man sie mit Curare zu vergiften. Dieses Gift wirkt bekanntlich auf die motorischen Endorgane der willkürlichen quergestreiften Muskulatur, nicht aber auf die des Herzens und der glatten Muskeln. Auch die sensiblen Bahnen sind frei. Wenn man einem Frosch eine geeignete Dose in den Lymphsack einspritzt, so wird er nach einiger Zeit bewegungslos, die Herzbewegungen aber, resp. der Blutkreislauf dauern fort.

Da man bis jetzt nur mit dem Extrakt Curare und nicht mit einer rein dargestellten chemischen Substanz arbeiten kann, so ist eine genaue Dosierung eine Unmöglichkeit. Von der sogen. 1 %igen wässerigen Lösung wende man etwa $^1/_{10}$ bis $^1/_5$ g für einen Frosch mittlerer Gröfse an. Dasselbe wird in den Rückenlymphsack injiziert. Tritt der erwartete Erfolg nach einer Stunde nicht ein, so wiederhole man die Einspritzung. Eine zu starke Wirkung bei den angegebenen Dosen, die den Stillstand des Herzens herbeiruft, haben wir bisher nicht beobachtet.

314. An einem so curarisierten Frosch kann man den Blutkreislauf z. B. an den durchsichtigen Schwimm-Membranen ohne weiteres beobachten. Um die Membran zu spannen, zieht man zwei Zehen auseinander und befestigt sie vermittelst zweier sogen. Insekten- (Karlsbader-) Nadeln über eine in eine Korkplatte mit einem Locheisen gemachte Öffnung. Die Platte wird so grofs gewählt, dafs der Frosch auch darauf Platz hat. Man bringe die Öffnung der Korkplatte über die Öffnung der Tischplatte des Mikroskops und beobachte.

Digitized by Google

Die Stellen, an welchen man den Blutkreislauf beobachten kann, sind sehr zahlreich. Man kann, um beim Frosche zu bleiben, die aus dem Munde gezogene und mit Nadeln über eine mit Ausschnitt versehene Korkplatte gespannte Zunge dazu verwenden; auch das Mesenterium läfst sich durch einen in der Axillarlinie gemachten Einschnitt mit einer Darmschlinge aus der Bauchhöhle hervorziehen, siehe Cohnheim (67b); für die Lunge verfahre man nach Holmgreen (74) (Holmgreensche Kammer).

Die Untersuchung des Blutkreislaufs an der Tritonlunge empfiehlt und gibt die erforderlichen Anweisungen hierzu Ewald (97), p. 248 ff.

Ferner kann der Blutkreislauf der Harnblase (Hällstén, 86) an den quergestreiften Muskeln u. s. w. untersucht werden.

Schwanzpartien kleiner Fische und Fischembryonen, äufsere Kiemen von Tritonen und namentlich die so langen und üppigen äufseren Kiemen der Salamander können gelegentlich, wenn gerade das Material hierzu vorhanden ist, verwertet werden. Auch Keimscheiben vom 2. oder 3. Tage der Vogelembryonen (Hühnchen, s. § 652) können zu demselben Zwecke gebraucht werden.

315. Man achte bei diesen Untersuchungen auf das Vorhandensein des axialen und Randstromes, auf das Pulsieren in den Arterien u. s. w. Man sieht unter günstigen Umständen die Umkehr des Stromes in den Kapillaren. An den Bifurkationstellen der Kapillaren bleiben oft die Blutkörperchen hängen und werden ganz enorm (auf das zwei- bis dreifache ihrer ursprünglichen Länge) gedehnt. Wird ein Blutkörperchen wieder frei, so nimmt es die ursprünglichen Dimensionen an (Elastizität).

An Mesenterien, aber auch in der Lunge, treten alsbald infolge der Vertrocknung, Temperaturschwankungen u. s. w. Zustände auf, die als Anfänge der Entzündung aufgefafst werden, und man sieht u. a. das Auswandern der weifsen Blutkörperchen durch die Gefäfswände.

316. Der Blutkörperchen-Zählapparat von Thoma (Abbe, 78), zu beziehen durch C. Zeifs in Jena, besteht aus einer gläsernen Kapillarröhre, welche in ihrem oberen Drittel mit einer Ausbuchtung versehen ist, in der eine kleine Glaskugel liegt. Das vordere Ende des Röhrchens ist mit einer Teilung versehen, und zwar von 0.1, 0.5, 1, bis zur Marke 101. Weiter ist dem Apparate eine von Abbe und Zeifs konstruierte Zählkammer beigegeben. Dieselbe ist auf einem Objektträger aufgekittet, genau 0.1 mm tief. Der Boden derselben ist in mikroskopische Quadrate geteilt. Der Raum über jedem Quadrat beträgt $^1/_{4000}$ mm. Je 16 solcher Quadrate sind durch besonders starke Linien markiert. Ausführung der Bestimmung: Es wird Blut in die Kapillare bis zur Marke 0,5 oder 1

Digitized by Google

eingesaugt. Dann wischt man die Spitze des Kapillarröhrchens ab und saugt in die Kapillare 3% Kochsalzlösung bis zur Marke 101 ein. Dann wird die Flüssigkeit gut durchgemischt und die in der Kapillare befindliche Flüssigkeitssäule durch Lufteinblasen entfernt (die Kapillare wird nach dem Gebrauche mit Wasser, dann mit Alkohol, dann mit Äther gereinigt). Mit dem Blutkochsalzgemenge füllt man die Glaskammer des Objektträgers, legt das Deckglas darauf und untersucht, nachdem man das Präparat einige Minuten stehen liefs. Man zählt immer 16 Quadrate durch und zieht aus den erhaltenen Zahlen das Mittel. Die Berechnung der Zählungen geschieht folgendermafsen: War das Blut bis zur Marke 0,5 aufgesogen, so ist die Verdünnung 1:200; war Blut bis zur Marke 1 in der Kapillare, so ist die Mischung 1:100. Multipliziert man die in den gezählten Quadraten gefundene Anzahl von Blutzellen mit 4000 und je nach der Verdünnung noch mit 100 oder 200 und dividiert durch die Zahl der gezählten Quadrate, so erhält man die Anzahl der Blutzellen in 1 cmm Blut. Zieht man eine mit etwas Gentianaviolett gefärbte 3%ige Kochsalzlösung in Anwendung, so ist es leichter, die auf diese Weise blau gefärbten Leukocyten von den meist blafs-roten Blutzellen zu unterscheiden, also auch zu zählen.

Weitere Literatur für Kap. 3 siehe: Ehrlich (91), H. F. Müller (92), Engel (98) und Grawitz (99).

4. Kapitel.

Bindegewebe und Fett.

317. Man fange mit **parallelfaserigem Bindegewebe** an; am leichtesten findet man bequeme Objekte in den Sehnen des Schwanzes einer Maus oder Ratte. Wenn man ein paar Endwirbel des Schwanzes mit den Nägeln samt der Haut abzwickt und die Wirbel durch Ziehen entfernt, so folgen einige dünne, glänzende, lange Fäden nach, die Sehnen.

318. Ein Stückchen solcher Sehne wird mit einer scharfen Schere abgeschnitten und nach der Methode der Halbeintrocknung (Ranvier, 89) auf dem Objektträger gefasert, d. h. es wird mit möglichst wenig Flüssigkeit gezupft, wobei man jedoch sorgt, dafs das Objekt während des Faserns nicht eintrockne, was man am besten dadurch bewerkstelligt, dafs man während des Faserns den Objektträger anhaucht.

319. In Wasser (Rollett [59 und 71] empfiehlt Maceration mit Kalk- und Barytwasser) untersucht, sieht man gröfsere oder kleinere Komplexe von Sehnenfibrillen und unter Umständen die Fibrillen selbst.

Digitized by Google

320. Solchen gefaserten Präparaten setze man etwas von einer z. B. 1 %igen Essigsäurelösung zu; die Fasern, resp. die Fibrillen quellen sehr stark auf und werden zuletzt so durchsichtig, dafs sie kaum mehr zu sehen sind. Deutlich werden dann die Kerne der Sehnenkörperchen.

321. Kalilauge, namentlich in der Wärme, bringt diese Sehnenfasern und Fibrillen in Lösung.

322. In Schnitten bringe man **Bindegewebsfibrillen** nach der Methode von Hansen zur Darstellung.

Hansens Bindegewebsfärbung. Hansen (98a) fertigt eine Stammlösung:

100 ccm gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung,
5 ccm 2 %ige Säurefuchsinlösung in Wasser.

(Diese Mischung kann längere Zeit aufbewahrt werden.)

Vor dem Gebrauche setzt man zu 30 ccm dieser Stammlösung 7 Tropfen 1%iger Essigsäure hinzu. Man färbt 20 Minuten bis 24 Stunden, tropft ab und bringt in Wasser, welchem man auf 30 ccm 20 Tropfen der zuletzt genannten angesäuerten Farbe zusetzt, für wenige Sekunden, entwässert möglichst rasch in 96%igem und absol. Alkohol, Xylol, dicker Canadabalsam. — Bindegewebsfibrillen rot, alle anderen Bestandteile der Schnitte gelb. Vorfärbung, z. B. mit Hämatoxylin, ist zulässig.

323. Schaffer (99) verwendet zur elektiven Bindegewebsfärbung gesättigte wässerige Pikrinsäure 100, Patent-Säurerubin 0,15, Eisessig 2 Tropfen. Vorbehandlung Sublimat oder Alkohol, Färbedauer 1 Minute bis Stunden, wenn nicht mittels Hämatoxylin-Thonerde vorgefärbt wurde; direkt in 95 %igen Alkohol, darin gut ausschwenken.

Wo es sich um die Wahrnehmung dünnster Häutchen von der Fläche handelt, empfiehlt Schaffer (99) eine von Freeborn angegebene Pikro-Nigrosinfärbung. Die mit Wasser aufgeklebten Schnitte werden $^1/_2$ Stunde (Freeborn sagt 3 Minuten) oder länger in einem Gemische von gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung 90, 1 %ige wässerige Nigrosinlösung 10 gefärbt, ausgewaschen, entwässert und in Balsam eingeschlossen; Muskelfaser graugrün (Verdichtungs- und Kontraktionsknoten leuchtend gelb), Bindegewebe blauschwärzlich.

324. Grobe Fasern des **elastischen** Gewebes verschafft man sich vom Ligamentum nuchae z. B. eines Rindes. Das Fasern geht hier bei weitem nicht so leicht von statten; die isolierten Fasern krümmen sich eigentümlich (Bischofstabform).

Digitized by Google

325. Die Reagentien, Essigsäure und Kalilauge, wirken auf solche Fasern, in der eben angegebenen Weise angewandt, kaum; elastische Fasern sind sehr resistent, namentlich der Kalilauge gegenüber. Diese letztere Eigenschaft kann man mit Vorteil benützen, um die feinen und feinsten elastischen Fasern zur Darstellung zu bringen. Man verfahre also: Eine dünne Lamelle, z. B. einer frischen Lunge entnommen, wird mit Kalilauge behandelt; nach einiger Zeit — ein paar Stunden — fangen Bindegewebe, Blut u. s. w. an, sich zu lösen, und es bleiben die feinsten Fäserchen, welche die Alveolen umspinnen, übrig.

Zum Nachweis der **elastischen Fasern** in Schnitten bediene man sich des Weigertschen Verfahrens und der Methode mit angesäuertem Orceïn.

326. Weigerts (98) Färbung elastischer Fasern gelingt nach allen üblichen Fixierungen, besonders nach Alkohol- und Formolfixation, aber auch nach Müllerscher und Flemmingscher Lösung und bei Celloidin- und Paraffinschnitten. Man bereitet sich eine 1%ige Lösung von Fuchsin (Synonyma: Rubin [nicht Rubin S.!], Magentarot, Anilinrot) und von 2%igem Resorcin in Wasser. Von der Resorcin-Fuchsinlösung werden 200 ccm in einer Porzellanschale gekocht. Wenn richtiges Kochen eingetreten ist, setzt man 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. III zu und kocht dann unter Umrühren 2—5 Minuten. Man lässt nun abkühlen und filtriert. Der auf dem Filter bleibende Niederschlag wird mit dem Filter in die vorher benützte, getrocknete Porzellanschale gelegt, in welcher ebenfalls Niederschlag geblieben ist. Das Ganze wird unter stetem Umrühren nach Zusatz von 200 ccm 95%igem Alkohol gekocht, wobei das Filtrierpapier stückweise entfernt wird. Schliefslich läfst man erkalten, filtriert und füllt das Filtrat mit Alkohol von 95% auf 200 ccm wieder auf. Nach Zusatz von 4 ccm Salzsäure ist die Farblösung fertig. Die Schnitte kommen auf etwa 20—60 Minuten hinein, werden im Alkohol (95%) abgewaschen und mit Xylol aufgehellt. Die Schnitte können auch länger (einige Stunden) in der Farbe bleiben, müssen aber dann unter Umständen in Alkohol-Salzsäure differenziert werden. Nach der Färbung erscheinen die elastischen Fasern dunkelblau, fast schwarz auf ganz hellem Grunde. Die Kerne sind bei kurzer Färbung nicht tingiert, sie können vor oder nach der Färbung durch Karmin gefärbt werden; hierbei kann Differenzierung in HCl-Alkohol angewandt

Digitized by Google

werden. Bei der Behandlung des Fuchsins in der angegebenen Weise entsteht nach Weigert ein neuer Farbstoff, der im Wasser unlöslich ist.

327. Die Orceïnmethode (Taenzer) nach Unna (91):

Orceïn	0,1
95%iger Alkohol	20,0
Aqua dest. . . .	5,0

wird zur Hälfte verdünnt (eventuell das Mischungsverhältnis ausprobieren, bei welchem die elastischen Fasern sich gesättigt dunkelbraun von dem weit schwächer gefärbten übrigen Gewebe abheben) mit

Acid. mur. . . .	0,1
95%iger Alkohol	20,0
Aqua dest. . . .	5,0,

darin färben 24 Stunden (am besten nicht aufgeklebte Schnitte), dann kurz (circa $^1/_2$ Minute) differenzieren in angesäuertem, 95%igem Alkohol (eventuell Kernfärbung mit Hämatoxylin oder Methylenblau), absolutem Alkohol, Xylol, Canadabalsam.

328. Das **areoläre** Gewebe wird am besten dem grofsen Netze, z. B. eines Kaninchens, entnommen und behandelt wie fibrilläres Bindegewebe. Es empfiehlt sich, kleinere Stücke des Netzes zu versilbern (siehe § 265) und alsdann mit Karmin (Pikrokarmin) zu färben. Dabei sieht man, wie die Endothelzellen dicke Maschen bildende Bindegewebsbündel bekleiden.

329. Das **retikuläre (adenoide)** Gewebe studiert man am besten in Lymphdrüsen und ähnlich gebauten Organen; siehe darüber in § 511 ff.

330. Um die Elemente der **Cutis** darzustellen, bedient man sich folgender Methode: Einem eben getöteten Hunde z. B. wird die Haut leicht abgehoben und eine Silbernitratlösung 1 pro mille subkutan (oder vielmehr subepidermoidal) eingespritzt. Es bildet sich dann eine kleine Ödemkugel, innerhalb welcher die Fasern etwas gedehnt und im gedehnten Zustande fixiert werden. Es wird ein einer solchen Ödemkugel mit einer krummen Schere entnommenes Fetzchen auf dem Objektträger sorgfältigst unter der Lupe zerfasert, eventuell durch Zusatz eines Tropfens Pikrokarmin auf dem Objektträger gefärbt. Dabei isoliert man Bindegewebsbündel, elastische Fasern, gut fixierte Bindegewebszellen, eventuell Fettzellen. An den Binde-

Digitized by Google

gewebsfasern sieht man oft spiralig verlaufende, einschnürende Fasern, die sich anders verhalten wie die Bindegewebsfibrillen.

331. Ewald und Kühne (74) unterwerfen die folgenden Gewebe der **Trypsinverdauung**, z. B. mit einem schwach alkalischen Glycerinpankreasextrakt, bei der Temperatur von 35° C.

1. Sehnen zerfallen in einzelne Fascikel oder in Fibrillen; von allen anderen Bestandteilen bleiben nur geschrumpfte Kerne erhalten, die leicht abfallen.

2. Alveoläres Bindegewebe des Mesenteriums verhält sich wie Sehne; Endothelien werden gelöst bis auf die Kerne.

3. Retikuläres Bindegewebe wird in vollkommener Reinheit dargestellt

4. Hyaliner Knorpel. Die Zellen werden bis auf die Kerne gelöst, die Grundsubstanz stellt ein eigenartiges, etwas körniges Netzwerk dar, von dem Verhalten des Kollagens.

5. Elastischer Knorpel verhält sich wie hyaliner; die elastischen Fasern verschwinden.

6. Elastisches Gewebe wird gelöst.

7. Sogenannte strukturlose Membranen werden vollkommen gelöst.

8. Die Leber ist bis auf die Kerne und das Kollagen vollkommen verdaulich. Das fibrilläre Bindegewebe erstreckt sich bis zur Vena intralobularis.

9. Muskeln werden bis auf die bindegewebigen Bestandteile verdaut.

10. Von den Epithelien der Schleimhäute bleiben nur die Kerne zurück.

11. Bei Schnitten menschlicher Oberhaut fällt zuerst das Rete Malpighii heraus, dann werden Stachelzellen isoliert, hierauf zeigen sich die Zellen der Hornschicht wie hohl mit doppelter Kontur.

Das Trypsin ist also ein Mittel, um aus jedem tierischen Gewebe kollagene Fibrillen und Netze, Hornsubstanz und Kerne zu isolieren.

332. Neueren Untersuchungen von F. Mall (91 und 96) verdanken wir zahlreiche Angaben über das Verhalten des Bindegewebes gegen Reagentien und greifen davon folgendes heraus:

Die elastischen Fasern bleiben in Essigsäure (auch beim Kochen in 20%iger) unverändert, sie werden nur brüchig; in konzentrierter Salzsäure gekocht, zerfällt die elastische Faser sehr rasch; in 10%iger bleibt sie bei gewöhnlicher Temperatur unverändert, in 50%iger löst sie sich in 7 Tagen, in konzentrierter schon am zweiten Tage; zuerst löst sich das Innere der Faser, dann die »Fasermembran«. Zur Darstellung

Digitized by Google

der letzteren kocht man die elastischen Fasern ein paar Mal in konzentrierter Salzsäure auf und giefst das Ganze in kaltes Wasser aus. Manchmal sieht man an den Membranen eine longitudinale Strichelung, welche auf einen fibrillären Bau hindeutet. Konzentrierte Kalilauge zerstört die Faser in wenigen Tagen, schwache Lösungen nur sehr langsam; eine 1 %ige braucht dazu Monate, eine 2%ige einen Monat, eine 5%ige drei Tage, 10%ige einen Tag, 20—40%ige Stunden. Eine schwache Kalilauge löst, auch kochend angewandt, die elastischen Fasern nicht auf; sie werden darin auch nicht brüchig. In 5- oder 10%iger Kalilauge gekocht, isolieren sich die »Fasermembranen«, ebenso in 20%iger kalter Lösung in 1—2 Tagen. Durch Pepsin zerfällt der Inhalt der Faser, die »Membranen« bleiben übrig.

Trypsin löst die elastischen Fasern rasch auf, nicht aber das Sehnen- und das retikulierte Gewebe, welch letztere tagelang darin unverändert bleiben. Die Fäulnis zerstört das Lig. nuchae in wenigen Tagen; zuerst zerfällt das Innere der Faser, dann die »Fasermembranen«.

Um den Faserinhalt und die »Fasermembranen« zu demonstrieren, empfiehlt sich eine Färbung mit Magentarot (ein Körnchen Magentarot auf 50 g Glycerin + 50 g Wasser). Der Inhalt färbt sich rot, die Faserscheide bleibt farblos.

Wird eine Sehne gekocht, so wird sie kürzer. Fixiert man die Sehne vor dem Kochen, so verkürzt sie sich nicht. Das adenoide Gewebe schrumpft beim Kochen, quillt nach kurzer Zeit und löst sich später auf. Sehnengewebe und adenoides Gewebe schrumpfen schon bei 72° C. Behandelt man sie aber eine kurze Zeit mit $^1/_2$%iger Osmiumsäure, so tritt die Schrumpfung erst bei 95° C. ein. Sind das Retikulum oder die Sehne durch Erwärmung geschrumpft, so lassen sie sich sehr leicht mit Pankreatin (Trypsin) verdauen und werden durch Fäulnis sehr leicht zerstört.

In konzentrierter und in einer Essigsäure von unter $^1/_{20}$% quellen die Sehnenfasern ebenfalls nicht. In Säuren zwischen $^1/_2$ und 25% quellen sie hingegen auf; in 25%iger werden sie nach 24 Stunden gelöst. In Salzsäure von 0,01% bis 6% quellen die Sehnenfasern auf. In einer 6- bis 25%igen Lösung bleiben sie eine Zeitlang ganz unverändert, und erst in konzentrierter Säure lösen sie sich. Das retikulierte Gewebe quillt in Salzsäure bis 3%, bleibt unverändert zwischen 3—10% und löst sich nach 24 Stunden in 25%iger Säure und in höheren Konzentrationen derselben. Nach Behandlung mit verdünnter Säure löst sich beim Kochen die Sehne viel rascher als das retikuläre Gewebe auf.

Im natürlichen Magensaft des Hundes lösen sich die Sehnen nicht schneller als das elastische Gewebe auf; im künstlichen dagegen löst sich zuerst die Sehne, dann das retikulierte Gewebe, dann die elastische Faser auf. Pankreatin greift weder

Digitized by Google

die Sehne, noch das retikulierte Gewebe an. Werden beide gekocht, so werden sie leicht in Pankreatin verdaut.

Die Fäulnis zerstört weder die Sehne, noch das Retikulum, wenn sie der Leiche entnommen worden sind. In der Leiche und namentlich bei höherer Temperatur (37°) zerfallen beide Gewebe in kurzer Zeit.

333. Höhl (97) empfiehlt, mit Wasser aufgeklebte Schnitte von fixierten Objekten zu verdauen. Nach Entfernung des Paraffins mit Xylol kommen die Objektträger in Alk. abs. und dann (da Pankreatin exakt nur bei vollständig entfettetem Präparat wirkt) in ein gut schliefsendes Gefäfs mit Benzin 24—72 Stunden bei 37° C., dann in abs., 90, 70%igen Alkohol und dann 10—20 Minuten in fliefsendes Wasser, dann in die Verdauungsflüssigkeit. Darin bleiben sie bei 20—37° C. 24—10 Stunden. Nach der Verdauung werden die Präparate in fliefsendem Wasser 10—20 Minuten vorsichtig ausgewaschen. Dann kommen die Objektträger zur Färbung in eine ½%ige wässerige Lösung von Ferridammonium tartaricum für 1—24 Stunden, dann kurz in Wasser und 3—24 Stunden in eine ½%ige wässerige (gereifte) Hämatoxylinlösung. Sind nach Abspülen des Farbstoffes die Bälckchen des Retikulum noch nicht tief schwarz, so kommt das Präparat noch auf 20—30 Minuten in die Eisensalzlösung (die jedes Mal frisch zubereitet werden mufs) zurück.

334. Man hat Gelegenheit genug, **Fettzellen** (Fett ist löslich in Äther, heifsem Alkohol, Benzol und Chloroform) in frischem Zustande an überlebenden Gewebsstücken zu untersuchen, beispielsweise an den Mesenterien kleinerer Tiere in einer Schicht. Man trifft unter besonderen Umständen auch Margarinkrystalle in Fettzellen an.

335. Das Fett ist so glänzend und die Fettzellen so grofs, dafs die feineren Strukturverhältnisse desselben am frischen Material unmöglich erkannt werden können. Um sich über den Bau einer Fettzelle zu orientieren, ist die im § 330 angegebene subepidermoidale Silbernitratlösung-Injektion zu empfehlen. An den Zupfpräparaten davon erhält man fast konstant isolierte Fettzellen, und diese zeigen einen deutlichen Fetttropfen, umgeben (im optischen Durchschnitt) von einem Protoplasmaring, der an einem Zellenpol sich verbreitert und den Kern der Fettzelle einschliefst.

336. Behandelt man ganz frisch herausgenommene Fettstückchen 24 Stunden lang in einer ½ bis 1%igen

Digitized by Google

Osmiumsäure, so zeigen die Fettzellen eine schwarze Färbung. Doch ist nicht immer alles, was sich mit Osmiumsäure schwärzt, Fett. Untersucht man die so behandelten Fettzellen näher, indem man sie mit Nadeln möglichst isoliert, so bemerkt man einen fast die ganze Zelle ausfüllenden, schwarz gefärbten Fetttropfen (wir sprechen von der ausgebildeten Fettzelle), und dieser wird umringt (im Sehfelde) von einem Gürtel grauen Protoplasmas und der Membran; das Protoplasma zeigt, wenn die Lage der Zelle eine günstige ist, an einer Stelle eine linsenförmige Verdickung, die den Kern beherbergt. Solche mit Osmiumsäure behandelte Fettstückchen, die längere Zeit, nachdem sie gewaschen wurden, in schwächerem oder stärkerem Alkohol aufgehoben werden, eignen sich nicht mehr zur Demonstration der eben angeführten Verhältnisse, und es ist am zweckmäfsigsten, möglichst rasch Präparate anzufertigen. Die in Osmiumsäure fixierten Stücke eines Fettläppchens werden mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Objektträger gezupft und in Glycerin (siehe § 160) übergeführt, das Deckgläschen wird umrandet, und so ein dauerndes Präparat angefertigt.

Um Fett mit Osmiumsäure nachzuweisen, übertrage man die mit Osmiumsäure behandelten Präparate nicht direkt in Alkohol, weil sie dadurch im ganzen geschwärzt werden. Am besten verfahre man so: Man behandle mit 1—2%iger Osmiumsäurelösung im Dunkeln, wasche mit destilliertem Wasser aus und übertrage allmählich in Alkohol, worin erst die intensive Färbung der Fetttropfen zum Vorschein kommt.

Das mit Osmiumsäure resp. Osmiumsäuregemischen schwarz gewordene Fett löst sich in Terpentin, Xylol, Toluol, Äther und Kreosot, nicht aber in Nelkenöl, Bergamottöl und Chloroform. (Bergamottöl löst osmiertes Fett der Nebenniere, H. Rabl [91], und aus der Gegend der Thymus, das Fett der Winterschlafdrüse, Schaffer [96]).

Die Löslichkeit in mit Osmiumsäure allein behandelten Präparaten ist eine viel geringere als in mit Osmiumgemischen fixierten (Flemming, 89a und 89b). — Das mit Müllerscher Flüssigkeit behandelte Fett schwärzt sich mit Osmiumsäure ebenfalls. — Über Fettosmieren nach verschiedener Vorbehandlung auf Schnitten siehe Unna (98).

Fetthaltige Gewebsteile werden also zweckmäfsig nicht durch Xylol etc., sondern durch Chloroform (siehe § 81) in Paraffin übergeführt, wenn man mit geschwärztem Fett gefüllte Zellen erhalten will.

Vergl. auch die Färbung von Azoulay in § 489.

Digitized by Google

337. L. Daddi (96) empfiehlt Sudan III als Färbungsmittel für Fett. Füttert man hiermit die Tiere mehrere Tage lang, so färbt sich das ganze Fett rot. Man kann auch frische oder fixierte (in Medien, welche Fett nicht lösen, z. B. Müllersche Flüssigkeit) Stücke oder Schnitte mit gesättigter alkoholischer Sudanlösung in 5—10 Minuten färben. Man wäscht in Spiritus aus und schließt in Glycerin ein. Färbung nicht haltbar.

338. Untersucht man frische Fettzellen, die mit einem Deckglase bedeckt sind, in Wasser oder indifferenter Flüssigkeit, so gewahrt man, daſs einige oder viele Fettzellen (die Membranen derselben) zerplatzen und gröſsere oder kleinere Fetttropfen frei werden und oft konfluieren. Man kann die Prozedur dadurch beschleunigen, daſs man auf das Deckgläschen (etwa mit einer Nadel) drückt.

339. Die Fettablagerungen in der Zelle bestehen nicht aus gleichartigen Stoffen, sondern aus verschiedenen in der Peripherie und im Centrum. Solger (93).

5. Kapitel.

Knorpel.

340. Der Knorpel kann an vielen Stellen, namentlich der hyaline, schon frisch untersucht werden. Man nimmt zu diesem Zweck entweder den knorpeligen Teil des Hypo- oder Episternums, oder aus der Scapula eines Frosches, oder auch des Processus xiphoideus kleiner Säuger. Solche dünne Knorpellamellen können, mit einem Stück Leinwand von Weichteilen gesäubert, in indifferenter Flüssigkeit (s. § 10 ff) untersucht werden. Man kann auf diese Weise die Knorpelgrundsubstanz, die Kapseln und die Zellen darin, welche die Kapseln ganz ausfüllen, mit Leichtigkeit sehen.

341. Aber auch groſse Stücke Knorpel sind der Untersuchung frisch zugängig. Die Konsistenz des Knorpels ist nämlich eine derartige, daſs man ohne weiteres mit einem mit indifferenter Flüssigkeit benetzten Rasiermesser dünne Schnitte anfertigen und in derselben Flüssigkeit sich ansehen kann.

342. Auf dieselbe Weise können frische Netzknorpelstücke mit dem Rasiermesser geschnitten (s. § 6) oder, wenn sehr dünn, wie die Ränder der Ohrmuschel einer Maus, nach der Entfernung der beiden Hautlamellen ungeschnitten untersucht werden.

343. Die hyalinen Knorpel haltigen Gewebsteile, welche mit Sublimat fixiert und nachträglich mit Safranin tingiert wurden, zeigen eine sehr prägnante Orangefärbung

Digitized by Google

der Knorpelgrundsubstanz. Hämatoxylin färbt dieselbe blau, auch Dahlia (§ 299) und Bismarckbraun färbt sie.

344. Hansen (98b) beschreibt im hyalinen Knorpel der Wirbeltiere feine Bindegewebsfibrillen in der hyalinen Grundsubstanz. Die durch Anwesenheit von Chondroitinschwefelsäure bedingte Basophilie maskiert die Fibrillen. Entfernt man die Chondroitinschwefelsäure aus einem unfixierten oder besser fixierten Knorpelschnitte durch sehr vorsichtige Behandlung mit Alkalien, so läfst sich mit Hansens Bindegewebsfärbung (s. § 322) alles Collagen (Bindegewebsfibrillen) im Knorpel färben; es wird demaskiert.

345. Knorpel der Kephalopoden zeigt verzweigte Knorpelzellen, welche miteinander anastomosieren.

346. Um Netzknorpel zu untersuchen (Ohrmuschel, Epiglottis etc.), fertige man sich, nachdem man ihn mit Alkohol fixiert hat, dünne Schnitte, welche nun beliebig gefärbt werden können, z. B. Borax-Karmin, Safranin etc.

An solchen Präparaten aber, namentlich in Canadabalsam, sieht man die feinen und dichten elastischen Netze kaum. Um diese darzustellen, kann man die Schnitte aus dem Wasser in eine sehr dünne Jodlösung einlegen, welche in kurzer Zeit die elastischen Netze braun färbt.

Bei dem Jodzusatz achte man auf das Vorhandensein des Glykogens in den Knorpelzellen (es kommt auch im hyalinen Knorpel vor), welches mahagonibraun erscheint. Diese Farbe schwindet beim Erwärmen.

347. Will man Dauerpräparate anfertigen, so tingiere man dünne Netzknorpelschnitte nach dem Weigertschen Verfahren (siehe § 326) oder nach der Orceïnmethode (siehe § 327).

Mit Pikrokarmin färben sich elastische Netze gelb, die Kerne der Knorpelzellen rot.

348. Tingiert man dünne Schnitte mit einer wässerigen Säurefuchsinlösung, wäscht dieselben längere Zeit in Alkohol aus und überträgt sie nach den allgemeinen Regeln in Canadabalsam, so erscheinen die Netze intensiv rot, das übrige, aufser den Kernen, farblos.

349. Knorpel bei älteren Individuen, namentlich Rippenknorpel, aber auch Larynxknorpel etc., zeigen Kalkeinlagerungen und müssen daher, nachdem sie fixiert worden sind, entkalkt werden (s. § 353 ff.).

350. Rippenknorpel des Erwachsenen und embryonale Knorpel bieten häufig Material für das Studium von mehreren Tochterknorpelzellen in einer Kapsel.

Digitized by Google

351. Die knorpelhaltigen Organe lassen sich nicht gut mit Eiweifs auf dem Objektträger, namentlich wenn die Schnitte etwas dick sind, aufkleben, weil sie sich beim Erhitzen werfen.

352. Der bindegewebige Knorpel wird aus der Zwischenwirbelscheibe etc. entnommen und entweder mit Osmiumsäure oder noch besser mit Pikrinsäure fixiert und mit Pikrokarmin oder nach Hansens Methode (siehe § 322) gefärbt.

Auch kleinere Stückchen, die in absolutem Alkohol fixiert worden sind, die dann geschnitten und mit Hämalaun und Eosin (s. § 220 f.) gefärbt werden, zeigen instruktive Bilder.

Literatur zu Kap. 5: Flesch (80).

6. Kapitel.

Knochen und Zähne.

353. In der organischen Grundmasse des Knochens sind verschiedene anorganische Substanzen und namentlich Kalksalze enthalten, welche dem ganzen Knochen die Festigkeit verleihen. Will man den Knochen schnittfähig machen, so mufs man diese Kalksalze entfernen, entkalken. Man behandelt zu diesem Zweck den Knochen, auch Zähne mit Säuren, welche an Stelle der Säuren der Kalksalze im Knochen treten. Unter Freiwerden dieser Säuren entstehen neue Verbindungen, die aber in Wasser resp. Spiritus löslich sind. Auf diesem Prinzip beruht die Entkalkung.

354. Unter den **Entkalkungsflüssigkeiten** steht nach P. Ziegler (99) an erster Stelle die schweflige Säure, deren Wirkung darauf beruht, dafs das unlösliche Tricalciumphosphat, das neben dem kohlensauren Kalk die Hauptmasse der anorganischen Bestandteile des Knochens darstellt, unter dem Einflusse der schwefligen Säure in Monocalciumphosphat, welches leicht löslich ist, umgewandelt wird.

Nachdem bei kleineren Knochen eine beliebige Fixation vorausgegangen ist, — bei gröfseren Knochen, da die gewöhnlichen Fixierungsmittel nicht rasch genug in die Tiefe eindringen, fixiere man am zweckmäfsigsten mit Formol, — verbringt sie P. Ziegler auf kürzere oder längere Zeit in die gesättigte wässerige schweflige Säure mit circa 5 % Säuregehalt. (Es wird dann ebensolange mit fliefsendem Wasser gewaschen, in allmählich steigendem Alkohol nachbehandelt und in Celloidin geschnitten.)

Digitized by Google

Dieselbe entkalkt den Humerus eines ausgewachsenen Meerschweinchens in 1—2 Tagen und erhält dabei die Struktur der Weichteile, wie keines der im folgenden erwähnten Verfahren; die Entkalkung erfolgt vollständig gleichmäfsig, und die Färbbarkeit mit allen Farben ist eine vorzügliche. Tritonenextremitäten bleiben nur 2—3 Stunden in der Säure; gröfsere menschliche Knochen 8 Tage. — Kleinere, passend fixierte und nicht länger wie 2—5 Stunden entkalkte Knochen zeigen in ihren Weichteilen die feinsten Zellstrukturen gut erhalten.

Von weiteren Entkalkungsflüssigkeiten (siehe auch Haug 91 a) nennen wir folgende:

355. Salzsäure $^1/_2$—1%, die oft zu wechseln ist,

356. eine 1%ige Salzsäurelösung zu gleichen Teilen mit einer 1%igen Chromsäurelösung,

357. für kleinere Objekte: konzentrierte Pikrinsäurelösung und Pikrinsalpetersäure, nicht aber Pikrinschwefelsäure wegen der Entstehung des schwerlöslichen Gipses,

358. Salpetersäure (gemeint ist Acidum nitricum crudum mit 61% Säuregehalt und von 1,40 spezifischem Gewicht), die 3—9%ig angewandt wird, in wässeriger Lösung oder noch besser gelöst in 70%igem Spiritus mit oder ohne Zusatz von Kochsalz (s. § 361).

359. Salzsäure darf wohl nie auf ganz frische Objekte angewandt werden, sondern nur auf vorher fixierte; aber auch diese, wenn sie grofs sind und längere Zeit in der Entkalkungsflüssigkeit liegen, verändern sich sehr stark. Besser entkalkend und fixierend zugleich wirkt Salzsäure-Chromsäure-Gemisch. Gute Resultate erzielt man mit Pikrin- und Pikrinsalpetersäure, aber diese Flüssigkeiten dringen nur sehr wenig in die Tiefe, und die Entkalkung geht aufserordentlich langsam von statten. Die Salpetersäure (namentlich schwächere Lösungen derselben auf kleinere Objekte angewandt, die vorher gut fixiert waren) liefert ebenfalls sehr Gutes. Statt des Wassers wird Kochsalzlösung empfohlen, durch welche die quellende Wirkung der Säuren aufgehoben wird (s. § 361). Bei allen diesen Flüssigkeiten gilt die Regel, möglichst viel Flüssigkeit zu nehmen und dieselbe möglichst oft zu wechseln.

Die Zeit der Entkalkung richtet sich nach der angewandten Flüssigkeit, Konzentration derselben, Temperatur u. s. w., dauert aber immerhin ziemlich geraume Zeit, mitunter wochenlang. Der Knochen ist dann entkalkt, wenn

Digitized by Google

er so weich geworden ist, dafs man ihn schneiden kann. Dies mufs man durch Probieren feststellen, indem man versucht, Schnitte darzustellen oder mit einer feinen Nadel in den Knochen einzustechen.

Die in einer dieser vier Flüssigkeiten entkalkten Stücke werden längere Zeit ausgewaschen, 24 Stunden und darüber, bis sie die Farben resp. die Säuren vollkommen dem Wasser abgegeben haben, und kommen dann, wie die fixierten Stücke, in Spiritus von allmählich steigender Konzentration.

360. Alle diese Flüssigkeiten bringen die Grundsubstanz des Knochens zum Quellen, und so kommen die meisten Primitivröhrchen zum Verschlufs; die feinere Struktur der Grundsubstanz und namentlich die der Lamellen geht ebenfalls verloren.

361. Um auch diese zu erhalten, hat v. Ebner (75) eine wässerige Kochsalz-Salzsäurelösung vorgeschlagen, die folgendermafsen zusammengesetzt ist:

Eine kaltgesättigte Kochsalzlösung wird mit zwei Volumina Wasser verdünnt und 2% Salzsäure (für Zähne 10 bis 20%) zugesetzt. Während die zu entkalkenden Knochen in dieser Flüssigkeit verweilen, wird täglich etwas Salzsäure zugesetzt, bis die Knochen biegsam geworden sind. Sie werden dann mit zur Hälfte gesättigter wässeriger Kochsalzlösung gewaschen. Diese nimmt bald saure Reaktion an, welche durch allmähliches spurweises Zusetzen von Salmiakgeist nach und nach gehoben wird, und zwar so lange, bis der Knochen neutral geworden ist. Der Knochen kann geschnitten werden. Diese Flüssigkeit entkalkt sehr langsam, liefert aber gute Resultate.

362. Für sehr zarte Objekte, also kleine embryonale Knochen oder für Felsenbeine ganz kleiner Tiere kann man sich auch der Flemmingschen Lösung bedienen und läfst diese 1—2 Tage und länger einwirken.

363. Für sehr kleine Objekte, die sehr wenig Kalk enthalten, genügt aber schon der Aufenthalt derselben in einer schwachen Chromsäure, wie sie zum Fixieren gebraucht wird, resp. in der Müllerschen Lösung, welche auch etwas freie Chromsäure zu enthalten pflegt.

364. Man gewöhne sich, die Entkalkung erst an fixierten Stücken vorzunehmen; wenn auch die Zeit, die zur Entkalkung solcher notwendig ist, eine viel längere ist, so werden doch die Weichteile viel besser geschont.

Digitized by Google

365. In den Angaben über Phloroglucin (Haug, 91 b) folgen wir v. Kahlden (95). Das Phloroglucin wirkt nicht selbst entkalkend, schützt vielmehr die Gewebe vor der gleichzeitig anzuwendenden Säure; man kann daher letztere in so starker Konzentration einwirken lassen, dafs die Entkalkung bei kleinen Knochen nach einer halben Stunde, bei härterem Knochenmaterial nach wenigen Stunden vollendet ist. Das Präparat ist deshalb während der Anwendung der Methode fortwährend zu kontrollieren. — Herstellung der Lösung: Phloroglucin 1,0 wird in reiner, nichtrauchender Salpetersäure 10,0 unter vorsichtigem Erwärmen gelöst, am besten unter dem Abzug des chemischen Herdes, da bei der Mischung unter stürmischer Entwicklung braunroter Dämpfe von salpetriger Säure eine bedeutende Wärmeentwicklung eintritt. Zu dieser (rubinroten) Stammlösung werden hinzugesetzt 10%ige wässerige Salpetersäurelösung 100 ccm.

Eine etwas langsamer wirkende Entkalkungsflüssigkeit ist die folgende:

Phloroglucin	1,0
Acid. nitric.	5,0
Alkohol	70,0
Aqua dest.	30,0.

366. Als eine schonend entkalkende Flüssigkeit, auch auf bereits fixierte Objekte anzuwenden, empfiehlt Thoma (91) Alkohol-Salpetersäure (abs. Alkohol 5 Vol., Acid. nitr. concentr. [Sp. G. 1,3] 1 Vol.). Diese Flüssigkeit ist täglich zu wechseln und entkalkt in wenigen Tagen. Ausgewaschen wird in 95%igem Spiritus mit Zusatz von präzipitiertem kohlensaurem Kalk im Überschufs. Nach 8 bis 14 Tagen verlieren die Präparate jede Spur der Säure und werden, um Kalk zu entfernen, mit reinem 95%igem Spiritus gewaschen.

367. Der so vorbereitete und ausgewaschene Zahn resp. Knochen läfst sich, mit Celloidin (siehe § 87) durchtränkt, schneiden.

368. Will man die Weichteile für sich allein untersuchen, so kann man durch geeignetes Sprengen des Zahns resp. der Diaphyse des Knochens, welches bei einer gewissen Spannung im Schraubstock plötzlich und ohne Splittern zu erfolgen pflegt, grofse Stücke der Pulpa resp. des Marks intakt herausnehmen, oder man spalte mit Hammer und Meifsel, wobei man die Weichteile weniger leicht lädiert. Falls diese keine Hartteile, sekundäre Dentinbälkchen, resp. spongiöse Bälkchen der nicht ganz resorbierten endochondralen Diaphyse enthalten, können sie ohne weiteres fixiert und nach den allgemeinen Regeln weiter behandelt werden.

Digitized by Google

369. Die Elemente des Knochenmarkes können auch an auf Deckgläschen ausgebreiteten Präparaten (s. § 290 ff.) untersucht werden.

370. Will man die Hart- und Weichteile im Zusammenhange untersuchen, ohne die Entkalkung vorher vorzunehmen, so bediene man sich der von v. Koch (78) mit grofsem Erfolge bei seinen Korallenuntersuchungen angewandten Methode. Diese wurde von Weil für die Herstellung der Zahnschliffe mit Erhaltung der Weichteile angewandt. Zähne oder Knochen werden, nachdem durch geeignetes Absprengen der Hartteile der Zugang zu den Weichteilen gesichert ist, fixiert und nach den allgemeinen Regeln bis zur eventuellen Stückfärbung inkl. behandelt. Dann werden sie durch absoluten Alkohol und Terpentinöl resp. Chloroform in eine Mischung von Canadabalsam und Terpentinöl resp. Chloroform übertragen. Durch allmähliches Verdunsten des Chloroforms resp. Eindicken des Terpentinöls, zumal bei einer höheren Temperatur, was unter Umständen mehrere Wochen in Anspruch nimmt, wird der den Zahn imprägnierende Canadabalsam und die Umgebung steinhart. Röse (92) empfiehlt, die Präparate im Wärmofen bei 50° C. trocknen zu lassen, wozu etwa 3—4 Monate nötig sind. Man kann, ohne Schrumpfung befürchten zu müssen, am Schlusse etwas rascher eindampfen, nur mufs man bei Beginn des Eindampfens möglichst geringe Temperaturgrade wählen. Dann kann das Ganze nach denselben Regeln geschliffen werden wie die Hartgebilde allein.

371. Will man die **Hartgebilde allein** untersuchen, so wähle man ganz dünne Knochenlamellen; Nasenmuscheln und Siebbeinzellenwände u. s. w. kleinerer Tiere liefern solche, die man ohne weiteres, wenigstens bei schwacher Vergröfserung, nachdem man Periost etc. abgeschabt hat, untersuchen kann. Oder man bereite sich mit einem scharfen Knorpelmesser von einem dickeren Knochen eine genügend transparente Lamelle, die ebenfalls ohne weiteres untersucht werden kann.

372. Befreit man dünne Knochenplättchen der Kiemendeckel kleiner Fische durch Schaben mit einem Skalpell vom umgebenden Bindegewebe und legt dieselben eine Stunde in absoluten Alkohol, so enthalten die Knochenkörperchen nach Ewald (97) Luft (Gas) und können dann durch Nelkenöl in Canadabalsam (auch den gewöhnlichen Xylol-Canadabalsam) übertragen werden.

373. Will man aber ausgedehntere Territorien, einen dickeren Knochen studieren und namentlich die Verbreitung der Hohlräume im Zahn und Knochen zur Darstellung bringen, so stelle man **Schliffe** her, indem man

Digitized by Google

folgendermafsen verfährt: Man wähle alte, gut macerierte und möglichst fettarme Knochen. Aus den Hohlräumen dieser Knochen ist durch die kombinierte Wirkung der Fäulnis und Austrocknung fast die ganze organische Substanz entfernt und die kleinsten Hohlräume im Knochen, auch Primitivröhrchen, sind mit Luft gefüllt. In gewöhnlicher Weise macerierte Knochen sind nicht geeignet, vielmehr wähle man verweste, im Lauf der Jahre vom Regen ausgewaschene alte Knochen, wie man sie in Abdeckereien etc. findet.

In neueren Macerationskammern der Anatomien sollen die Knochen so vollkommen entfettet werden, dafs sie nach dem Trockenwerden ohne weiteres für diese Zwecke ebenfalls benützt werden können.

Man bereite sich durch zwei parallele Schnitte vermittelst einer Laubsäge eine dünne Lamelle, die man einer Region im Knochen entnimmt, welche man gerade studieren will; man beginnt mit Quer- und Längsschliffen. Auf einem harten und planen Schleifstein oder zwischen zwei solchen werden die Flächen möglichst eben gemacht. Die eine Fläche wird auf einer matten Glasplatte poliert. Der Knochen wird gewaschen und getrocknet und die fertig polierte Fläche auf eine dicke, mit abgeschliffenen Rändern versehene Glasplatte mit Canadabalsam befestigt, welche sich leichter mit der Hand fassen läfst, als der dünne Schliff allein. Es geschieht dies, indem man auf der Glasplatte ein Stück festen Canadabalsams (Grübler) durch Erwärmen über der Flamme flüssig macht. Dann legt man den Schliff auf und achtet darauf, dafs zwischen Schliff und Glasplatte keine Luftblasen verbleiben. Nun kann die andere Fläche auf einem Schleifstein geschliffen werden, bis die Lamelle eine sehr dünne wird.

Ist das Knochenstück nicht genügend auf der Glasplatte mit Canadabalsam befestigt gewesen, was man an den glänzenden Luftblasen zwischen dem Schliff und der Glasplatte erkennt, so pflegt der Schliff gerade zu der Zeit, wenn er anfängt, brauchbar zu werden, zu zerbrechen.

Man kann sich auch in der Weise den Schliff anfertigen, dafs man ihn, ihn auf eine Schleifsteinplatte einfach mit dem Finger oder mit einem Stückchen Kork andrückend, von der einen und dann von der anderen Seite abreibt, bis er genügend dünn, durchscheinend wird.

Diese Methode ist keine sichere, und namentlich der Anfänger mache sich auf viel Materialverlust gefafst. Die

Digitized by Google

Methoden des Schleifens sind namentlich von den Mineralogen ausgebildet worden, und man kann, wie gesagt, auch sehr harte Gebilde, Minerale, Gehäuse von Mollusken etc., nach ihnen schleifen, nur dafs man, je nach der Härte, entweder härtere Steine, Schmirgel oder gar Demantpulver anwendet.

Grofse, gleichmäfsig dünne Schliffe ohne Sprünge und Spalten wird man ohne maschinelle Vorrichtungen (rotierende Steine der Mineralogen etc.) wohl mit der gröfsten Übung nicht erzielen können.

374. Der Schliff kann, nachdem er auf einer Glasplatte poliert worden ist, entweder gleich in Canadabalsam eingeschlossen werden, indem man die Glasplatte als Objektträger benützt; dieses führt aber im allgemeinen zu keinem Ziele, da die Hohlräume durch den darin enthaltenen Canadabalsam, welcher annähernd ebenso Licht bricht wie die hell gewordene Grundsubstanz des Knochens, unsichtbar werden. Man löst daher besser die nun sehr vorsichtig zu behandelnde zarte Knochenlamelle mit Chloroform von der Glasplatte ab. Man läfst den Schliff trocknen und betrachtet denselben etwa im Wasser; man sieht in der ersten Zeit aufserordentlich deutliche, schwarz gefärbte, mit Luft gefüllte Knochenkörperchen und Primitivröhrchen. Es tritt allmählich, aber sehr langsam Wasser an Stelle der austretenden Luft ein. Auf dieser Thatsache beruht nun die folgende einfache Darstellung der Primitivröhrchen und Knochenkörperchen.

375. Einschlufs des lufthaltigen Schliffes. Man erwärme ein Stückchen festen (durch Grübler zu beziehen) Canadabalsams auf dem Objektträger, bis es flüssig wird, und nehme entstehende Luftblasen mit einer heifsen Nadel weg. Nun lege man den vorher lufttrocken gemachten, weifsgewordenen Schliff auf den flüssigen Canadabalsam und bedecke rasch mit einem Deckgläschen. Dabei hat man darauf zu achten, dafs besonders auch der Raum zwischen Schliff und Deckgläschen mit Canadabalsam gefüllt wird, was man eventuell durch Drücken mit der Nadel auf das Deckglas oder Nachwärmen erreichen kann. Die Prozedur gelingt nur, wenn man rasch arbeitet; der Canadabalsam erstarrt in der kürzesten Zeit, und es bleibt die Luft in den Knochenräumen gefangen. Man hat also ein Dauerpräparat von Knochenkörperchen und Röhrchen gewonnen.

376. Auch an den Schnitten durch entkalkte Knochen gewinnt man durch Eintrocknen, aber nur an kleinen Bezirken mit Luft gefüllte Primitivröhrchen und Körperchen,

Digitized by Google

die man auf dieselbe Weise dauernd einschliefsen kann (Flemming).

377. Man kann bei Schliffen anstatt der Luft einen geeigneten Farbstoff substituieren, so **Anilinblau** (Ranvier [75]), löslich in Alkohol und unlöslich in Wasser, oder einen anderen, z. B. Methylviolett. — Man verfährt dabei folgendermafsen: Man nimmt eine alkoholische konzentrierte Lösung von Anilinblau, am besten in einer kleinen ca. 15 g fassenden Abdampfschale, legt den lufttrockenen Schliff hinein und erwärmt das Ganze langsam, bis der Alkohol verdunstet ist. Bei diesem Erwärmen entweicht in der Regel die ganze Luft, und es werden die Räume im Schliffe mit dem feinen Anilinblaupulver gefüllt. Da aber die Flächen des Schliffes bei dieser Prozedur mit Niederschlägen verunreinigt werden, so entferne man diese mit Messer, Pincette und Pinsel, soweit es geht, und schliefslich durch Polieren auf einer Glastafel, die mit einer 2- bis 3%igen Kochsalzlösung, welche Anilinblau nicht löst, benetzt wird. Man spüle den Schliff in derselben Kochsalzlösung ab und schliefse definitiv ein in Glycerin-Kochsalz; oder, nachdem der Schliff ganz flüchtig mit destilliertem Wasser abgespült worden ist, um Kochsalz zu entfernen, wird er schnell getrocknet und nach der vorhin erwähnten Methode in harten Canadabalsam eingeschlossen. Diese Methode gelingt nur bei verwitterten Knochen (s. § 373). Vorsicht ist notwendig beim Erhitzen der Farbe; entzündet sich dieselbe, so bedecke man die Abdampfschale bis zum Erlöschen der Flamme mit einem bereit gehaltenen flachen Deckel und fahre dann mit dem Abdampfen fort.

Das gewöhnliche Überführen in flüssigen Canadabalsam ist in diesem Falle deshalb nicht zulässig, weil Anilinblau durch Alkohol, ätherische Öle etc. gelöst, resp. angegriffen wird.

378. Flemming (86) entkalkt, schneidet, trocknet die Schnitte ein und imbibiert dann (s. § 376).

379. Ganz dieselben Methoden können ohne weiteres auf die **Zähne** (s. v. Ebner [91]) übertragen werden, wobei die Dentinröhrchen mit Luft resp. Farbe gefüllt werden (Schleifen macerierter Zähne, Kochsche Versteinerungsmethode [s. § 370]).

Die Struktur der Zähne kann auch an Schnitten untersucht werden. Selbstverständlich müssen hierzu die Zähne entkalkt sein. Man wendet dieselben Methoden wie beim

Digitized by Google

Knochen an. Salzsäure, verdünnte Chromsäure und Pikrinsäure lösen jedoch die Schmelzprismen auf, wobei die Kittsubstanz der letzteren zuerst in Lösung tritt (von Ebner).

Schmelz junger Zähne färbt sich in Chromsäure und deren Salzen braun, in Osmiumsäure schwarz. Schon in den Schmelzzellen (Adamantoblasten) sieht man Tropfen, welche Färbung mit Osmiumsäure annehmen (Graf Spee, 87). Ätzt man Längsschliffe durch den Schmelz mit Salzsäure, so tritt die Kreuzung seiner Prismen deutlich hervor (Retziussche Linien).

Um die Fibrillen des Dentins zu sehen, entkalke man einen Zahn in der von v. Ebner empfohlenen Flüssigkeit (s. § 361); Zähne jugendlicher Individuen sind hierzu besonders geeignet. Auch kariöse Zähne liefern mitunter sehr deutliche Bilder. Ätzen der Schliffe mit Salzsäure führt ebenfalls zum Ziele.

Das Cement und namentlich das zellenarme enthält eine grofse Zahl von Sharpeyschen Fasern.

Die Entwickelung der Zähne studiere man an Embryonen, deren Kiefer man fixiert, entkalkt und in Serienschnitte zerlegt. Am bequemsten verschafft man sich Schafembryonen, welche in Schlachthäusern fast immer zu haben sind.

380. Kleine frische Knochen oder Zähne oder mit der Säge dargestellte Plättchen solcher, die nicht über $^3/_4$ mm dick sein dürfen, kommen in ein Gemisch von 1 %iger Goldchloridlösung und reiner Ameisensäure (2 Vol. zu 1 Vol.) auf 24 Stunden, werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit gewaschen und in eine Lösung von Gummi arab. in Glycerin auf 24 Stunden übertragen. Nach abermaligem Waschen mit destilliertem Wasser und Überführung in Alkohol kann mit Celloidin oder Paraffin durchtränkt und geschnitten werden u. s. w. Die Schnitte zeigen exakt dunkelviolett gefärbte Primitivröhrchen resp. Dentinröhrchen in heller Grundsubstanz (Lepkowsky, 92).

381. An den mit Anilinblau behandelten Knochenschliffen sieht man, namentlich an Querschliffen farblose, scharf begrenzte Kreise. Es sind Sharpeysche Fasern (Ranvier).

382. Feine Knochenschliffe können im rotglühenden Platintiegel über einer Gasflamme $^1/_2$—1 Minute geglüht (bei längerem Glühen werden die Schliffe meist undurchsichtig) und dann untersucht werden. Beim Glühen wird

Digitized by Google

die organische Substanz zerstört und man bekommt unter Anderem die Sharpeyschen Fasern, wenigstens die nicht verkalkten, äufserst deutlich zu Gesicht (Kölliker, 86).

383. Die Sharpeyschen Fasern kann man auch durch Färbung am entkalkten Knochen darstellen. Kölliker (86) verfährt folgendermafsen: Ein Schnitt von demselben wird mit Ac. acet. conc. durchsichtig gemacht und sofort auf kurze Zeit, $^1/_4$, $^1/_2$—1 Minute, in die unverdünnte Indigokarminlösung gebracht, hierauf in destilliertem Wasser ausgewaschen und dann entweder in Glycerin oder in Canadabalsam aufgehoben. Die Sharpeyschen Fasern werden blafsrot bis dunkelrot, die übrige Knochensubstanz blau.

384. Um die Knochenkörperchen Virchows zu isolieren, d. h. die Knochenhöhlen mit dazu gehörigen Primitivröhrchen mit der sie begrenzenden kompakteren Knochensubstanz, verfährt man in der Weise, dafs man dünne Schliffe in einer konzentrierten Salpetersäure Virchow (50) einige Stunden bis einen Tag verweilen läfst; die Schliffe werden auf einem Objektträger deponiert und mit einem Deckgläschen bedeckt. Drückt man auf das Deckgläschen mit einer Nadel, so kommen in der Regel ellipsoidische Körper mit zahlreichen Ausläufern isoliert zum Vorschein.

385. Für Studium der **Ossifikation** nehme man als Material am besten Röhrenknochen embryonaler Säugetiere, entkalke dieselben und schneide in der Längsrichtung etc.

386. Als Färbung kann man anwenden: Methylgrün-Eosin (siehe § 228) oder Karmin-Hämatoxylin. Nach der Färbung mit Borax-Karmin nachzufärben mit Hämatoxylin (Strelzoff, 73).

387. Vermittelst der Doppelfärbung Borax-Karmin — Bleu de Lyon (s. § 215) färbt sich aufser dem Knochengewebe und den Bindegewebsfibrillen auch das entkalkte Dentin, und man kann die feinste Ablagerung desselben auf diesem Wege nachweisen (Röse, 93).

388. Färbt man die zum Studium der Ossifikation bestimmten Präparate mit Hämatoxylin und behandelt dieselben sehr kurze Zeit mit Pikrinsäure, so erzielt man eine sehr instruktive Doppelfärbung, indem die Knorpelsubstanzüberreste blau und die neugebildeten Knochenlamellen gelb bis bräunlich erscheinen (Klaatsch, 87).

389. Besonders zum Studium der Knochenbildung geeignete Dauerpräparate durchsichtiger Embryonen erhält man nach O. Schultze (97), indem man die mit Alkohol mindestens 8 Tage (nicht mit Säuren) fixierten Embryonen in wässerige Lösung von Kalium causticum von 3—5%

Digitized by Google

überträgt (bei gröfseren Embryonen das Hirn mit Pincette und kleinem Löffel entfernen und die Bauch- und Brusteingeweide nach einem Medianschnitt durch die Bauchdecken). Sind die Embryonen durchsichtig, so können sie in Glycerin mit Formolzusatz (Wasser 100, Glycerin 30, Formol [35 %ig] 2) konserviert werden.

Literatur zu Kapitel 6: Schaffer (88 und 93), für Zähne v. Ebner (91).

7. Kapitel.

Muskel, Nervenfaser und Nervenendigungen im Muskel.

390. Die **quergestreiften Muskeln**, z. B. einem Schenkel eines Frosches entnommen, werden frisch auf einem Objektträger in physiologischer Kochsalzlösung oder einer anderen indifferenten Flüssigkeit untersucht. Die Querstreifung von solchen Muskeln ist kaum zu sehen, besser die Fibrillärstreifung.

Bei Fröschen sieht man oft zwischen den Fibrillen glänzende Pünktchen (namentlich bei Winterfröschen); es sind in der Regel Fettkügelchen.

391. Nach einiger Zeit hebt sich schon bei dieser Untersuchungsweise das Sarcolemma gewöhnlich ab.

Noch rascher kann man das Sarcolemma dadurch zur Ansicht bringen, dafs man zu frisch gezupften Muskelfasern etwas Wasser zusetzt; es hebt sich alsdann das Sarcolemmahäutchen so ab, dafs es mehr oder weniger auffällige Hervorragungen bildet.

392. Für die Darstellung des Sarcolemmas empfiehlt Solger (89 a) statt des gewöhnlichen Wassers resp. Kochsalzes die Anwendung einer kalt gesättigten Lösung des kohlensauren Ammoniaks. Schon nach 5 Minuten hebt sich der Sarcolemmaschlauch an sehr vielen Stellen ab.

Über Sarcolemma siehe auch Froriep (78).

393. Man sieht die **Querstreifung** sehr gut an alten, in **Spiritus** längere Zeit (Monate, Jahre) aufbewahrten Wirbeltiermuskeln, die man nach der Isolation auf dem Objektträger oder in Schnitten mit Hämatoxylin färben und in verdünntes Glycerin einschliefsen kann. Die doppeltbrechenden Substanzen erscheinen dunkelblau, das übrige heller bis farblos. Denselben Effekt bewirken auch andere Farbstoffe, z. B. die basischen Aniline, jedoch nicht so prägnant.

394. Es ist eine Anzahl von Reagentien vorhanden, die den fibrillären Zerfall der Muskelfaser beim Zupfen begünstigen.

Digitized by Google

Spiritus in allen Konzentrationen (ausgenommen die allerschwächsten etwa bis 10 %).

Sehr dünne Chromsäurelösungen (unter $^1/_{10}$ %), dünne Lösungen der chromsauren Salze.

395. Schwache Essigsäure ($^1/_2$ bis 1 %), eine 1 bis 5 ‰ige Salzsäurelösung, Magensaft etc. bewirken dagegen den Zerfall der Muskelfasern in Scheiben (aber in keine Bowmansche).

396. Verschiedene Käferarten (z. B. Hydrophilus piceus) werden nach Rollett (85) äufserlich abgetrocknet und lebend in Alkohol von 93 % gebracht. Die Muskeln zeigen unter Umständen Zerfall in Bowmansche Scheiben (Querscheiben) mit erhaltenem Sarcolemma. Man untersucht sie nach 24—48 Stunden in verdünntem Glycerin. Nach 10—12 Tagen verwende man sie, wenn man, was sehr zu empfehlen ist, beabsichtigt, dieselben mit Hämatoxylin zu tingieren, Glycerinhämatoxylin. Man setze zu mit Wasser verdünntem Glycerin wenig Hämatoxylin, zupfe in demselben und färbe 6—12 Stunden.

Verdünnte Säuren dagegen machen die Substanz der Bowmanschen Scheiben selbst quellen und lösen dieselbe endlich auf (Krause). Die Säurewirkung studiere man nach Rollett, indem man Käfermuskeln, welche 24 Stunden in 93 %igem Alkohol gelegen haben und die den früher beschriebenen Scheibenzerfall zeigen, in Glycerin zupfe und an den Rand des Deckgläschens einen Tropfen Glycerin bringe, welchem eine Spur von 1 %iger Ameisensäure zugesetzt worden war. Dann untersuche man auch in 1 %iger Ameisensäure direkt.

397. Zum weiteren Studium (auch der Cohnheimschen Felder) empfiehlt sich Vergoldung (siehe auch § 432 ff.). Rollett verfährt folgendermafsen: Man bringe ganz frische Käfermuskeln nach Retzius in $^1/_5$—$^1/_2$ %ige Goldchloridlösung, ziehe sie mit Platinnadeln etwas auseinander, lasse sie 20—25 Minuten im Goldbade verweilen und bringe sie dann in 1 %ige Ameisensäure oder Bastian-Prichardsche Reduktionsflüssigkeit (siehe Prichardsche Lösung).

398. Es ist nicht gleichgültig, ob man einen gedehnten oder nicht gedehnten, kontrahierten oder schlaffen Muskel untersucht.

Um alle diese Zustände des Muskels sich zu beschaffen, verfährt man in der Weise, dafs man durch eine passende Lage der Extremitäten, z. B. an einem Muskel oder einer Muskelgruppe, den gedehnten oder nicht gedehnten Zustand herstellt. Ist das geschehen, so injiziert man durch Einstich mit einer Pravazschen Spritze etwa $^1/_4$—$^1/_2$ ccm einer 1 %igen Osmiumsäure, welche sich den Fasern entlang verbreitet und diese sofort fixiert. Nach 15—20 Minuten

Digitized by Google

schneidet man mit einer krummen Schere in dieser Weise fixierte Stücke aus, wäscht sie ebenso lange mit destilliertem Wasser und fasert auf dem Objektträger. Man sieht die Querstreifung sehr deutlich, schon an ungefärbten und in Glycerin eingeschlossenen Präparaten.

Solche gedehnte und nicht gedehnte Muskeln können aber auch in Tetanus versetzt werden, indem man die Muskeln beispielsweise elektrisch reizt und in kontrahiertem Zustande, wie oben erwähnt, fixiert und in ganz gleicher Weise weiter behandelt (Ranvier, 89).

399. Auch rote und weifse Muskeln sehen nicht ganz gleich aus, namentlich was die Höhe der Scheiben und die Verteilung der Kerne betrifft.

Die Mehrzahl der Muskeln der unteren Extremität des Kaninchens sind weifs, rot sind dagegen der Semitendinosus, Cruralis, Adductor brevis, Soleus, Quadratus femoris (Ranvier, 89).

400. Die Beziehungen der Fibrillengruppen zum Sarcoplasma (Cohnheimsche Felder) und die Kerne studiere man an Querschnitten mit Osmiumsäure in gedehntem Zustande fixierter Muskeln. Auffallend viel Sarkoplasma im Verhältnis zu der Menge der Fibrillen sieht man beispielsweise an den die Rückenflosse des Seepferdchens bewegenden Muskeln; unter den Säugetieren bieten die Brustmuskeln der Fledermäuse ähnliches (Rollett, 89).

401. Um die Verteilung der Kerne in verschiedenen Muskelarten der verschiedenen Tiere zu studieren, schneide man die Muskelfaser quer; auf sehr dünnen Schnitten kann man auch die Verteilung der Fibrillen in der Faser studieren. Muskelfasern, die vorher vergoldet (siehe § 432 ff.) und quer resp. längs geschnitten waren, zeigen auf das deutlichste das dunkelgefärbte Sarcoplasma.

402. Um die Beziehungen der Muskelfaser zur Sehne zu studieren, empfehlen sich die Methode von Weismann und die von Ranvier.

403. Kleine Muskeln mit entsprechenden Sehnen werden mit 35 %iger Kalilauge $^1/_4$ Stunde lang behandelt und dann auf dem Objektträger die Stelle zwischen Muskel und Sehne gefasert. So lassen sich Muskelfasern im Zusammenhang mit der entsprechenden Sehne isolieren, (Weismann, 61).

404. Ranvier empfiehlt, einen lebenden Frosch in Wasser von 55° C. zu setzen; er stirbt darin sehr bald, und

Digitized by Google

die Muskeln werden starr. Man lasse den Frosch in dem kälter werdenden Wasser $^1/_4$ Stunde, dann wird er herausgenommen. Man schneidet mit einer Schere einen kleinen Streifen aus, der gleichzeitig Muskel und Sehne enthält, und fasert im Wasser.

405. Für Isolation der freien Enden der Muskelfasern gibt es eine Methode von Rollett (vergl. Kühne, 62), nach der man Muskelfasern im zugeschmolzenen Röhrchen etwa 10 Minuten auf 120—140° im Sandbade erhitzt.

406. Zum selben Zwecke empfiehlt Kühne (62): In 0,1 g Schwefelsäure (1,83 spezif. Gew.) auf 1 l Wasser bringe man den Muskel auf 24 Stunden; während dieser Zeit prüft man die Reaktion der Flüssigkeit, und wenn dieselbe nicht mehr sauer ist, ersetzt man die Flüssigkeit durch eine neue. Man schüttelt nun den Muskel mit destilliertem Wasser in einem Probierglase, erneuert das Wasser, bis es nicht mehr sauer reagiert, und setzt nun den Muskel in einem gröfseren Gefäfs mit destilliertem Wasser in einen Thermostat von 35—40° C. Nach 24 Stunden bei abermaligem Schütteln in einem Probierglas mit destilliertem Wasser zerfallen die Muskeln in Fasern.

407. Auf die Beziehungen der Fibrillen zu »Sehnenfäserchen« an dem Polster der Unterlippe des Kaninchens macht W. W. Podwissotzki (87) aufmerksam, und zwar mit der Methode: Flemmingsche Flüssigkeit, Safranin und Ausziehen mit Pikrinsäure.

408. Glatte Muskelfasern werden mit starker bis 20%iger rauchender Salpetersäure isoliert. (Reichert, 49a). Frische Stücke der Muskelhaut eines Darmstückes werden in die eben angegebene Salpetersäure auf einige Stunden (2 bis 3 Stunden) eingelegt. So vorbereitete Muskeln werden mit Wasser gewaschen und lassen sich sehr gut auf dem Objektträger zerfasern. Läfst man die Stücke in der Salpetersäure längere Zeit (12—24 Stunden), so fallen die Muskeln beim Schütteln von selbst auseinander; die einzelnen Muskelzellen aber sind schlecht erhalten, unregelmäfsig gezackt und der Kern ist vollkommen aufgelöst. Solche Präparate können in Glycerin als Dauerpräparate eingeschlossen werden.

409. Legt man aber kleinere Stückchen in eine **Kalilaugelösung** von spezifischem Gewicht von 1,33 (32,5%) und beläfst sie dort $^1/_2$—$1^1/_2$ Stunden, so lassen sich in derselben Flüssigkeit durch Fasern aufserordentlich deutliche

Digitized by Google

Spindeln darstellen. Ist der Macerationsprozefs vollkommen gelungen, so zerfallen die Muskelmembranen in lauter Fasern schon infolge des Druckes des Deckgläschens; sie werden in Kalilauge untersucht. In derselben Weise isoliert man die verzweigten quergestreiften Muskelzellen aus der Zunge des Frosches. Auch in Spiritus gewesene Präparate lassen sich auf die angegebene Weise macerieren (Moleschott, 59 und 63).

410. Es ist zwar möglich, durch vorsichtiges Neutralisieren der Kalilauge mit Säuren, Auswaschen und Färben solche Präparate in Glycerin überzuführen, die Prozedur ist aber eine komplizierte und minutiöse.

Ewald (97) giefst reichlich 30 %ige Essigsäure im Überschufs zum Brei der mit Kalilauge isolierten Elemente, läfst absitzen, hebert ab, färbt mit Hämatoxylin und verfährt weiter, wie in § 263 angegeben wurde.

Born bereitet die durch die Kalilauge isolierten Muskelfasern dadurch zum Einschliefsen vor, dafs er sie zunächst in Glycerin zerteilt und darauf 2—3 Tropfen salzsäurehaltigen Glycerins und Jodtinktur so lange zusetzt, bis beim Umrühren die braune Jodfärbung des Glycerins nicht mehr verschwindet. Die Jodfärbung der Fasern schwindet später wieder, kann aber durch Karminfärbung ersetzt werden.

411. An kleinen Gefäfsen, z. B. den Mesenterien kleinerer Tiere, lassen sich die Kittlinien der glatten Muskelfasern sehr schön darstellen. Solche Bilder findet man gelegentlich an Mesenterien, die man zum Zwecke der Endothelzeichnung hergestellt hat, vor (siehe § 265).

412. Mit einer 1 %igen Osmiumsäure fixierte glatte Darmmuskulatur kleinerer Tiere, z. B. des Frosches, wird mit Paraffin durchtränkt und genau senkrecht auf die Richtung der Fasern möglichst dünn (unter 5 μ) geschnitten. Die Querschnittsbilder sind instruktiv und sehr charakteristisch. An gefärbten Längsschnitten studiere man die stabförmigen Kerne der Muskelfasern.

413. An dünnen (5 μ) Querschnitten durch gut fixierte (z. B. mit Flemmingscher Lösung) glatte Muskelfasern, etwa der Muscularis des Darmes einer Katze, sieht man zwischen den Muskelfasern Zellbrücken, die den Querschnitten der Zellleisten entsprechen (Barfurth, 91). Vergl. auch § 271 f.

Schaffer (99), welcher die an Querschnitten glatter Muskelfasern zu beobachtenden, Intercellularbrücken ähnlichen Verbindungen (Kultschitzky, Barfurth) als ein Kunstprodukt bezeichnet, weist ein zwischen den Muskelfasern sich findendes zartes, von Lücken durchsetztes Bindegewebe mit Pikrofuchsin (siehe § 323) und Pikronigrosin (siehe § 323) nach.

Digitized by Google

414. Um die **Herzmuskelzellen** mit Kalilauge zu isolieren, verfährt man genau in derselben Weise, nur dafs die Isolation hier in der Hälfte Zeit einzutreten pflegt. Der Zerfall in Zellen ist aber beim Herzen nie ein so vollkommener wie bei der glatten Muskulatur.

415. An Längsschnitten durch das Myokard des Menschen haben wir einige Male, jedoch nicht immer, die allerschärfsten Grenzlinien im ganzen Schnitt sehen können (Fixierung mit Sublimat, Färbung Hämatoxylin).

416. Die Muskelzellen der **Purkinjeschen Fäden** werden in der Weise dargestellt, dafs man $^1/_2$ mm dicke Lamellen mit dem Endokard in wenig Ranvierschen $^1/_3$ Alkohol auf 24 Stunden einlegt. Auch $5^0/_0$ige Lösung von Ammonium monochromat in Wasser leistet Vorzügliches (Ranvier, 89).

Es läfst sich nun das Endokard ganz glatt abziehen, die Purkinjeschen Fäden werden abgehoben und zerzupft. Es lassen sich die Zellen bequem mit Nadeln isolieren, eventuell isolierte Zellen beispielsweise mit Pikrokarmin nachfärben (nicht zu stark) und in Glycerin einschliefsen. Sehr geeignete Objekte liefern die Herzen der Schafe, Ziegen und Pferde, nicht des Menschen.

417. Die **markhaltigen Nervenfasern** kann man im überlebenden Zustande in einer indifferenten Flüssigkeit (siehe § 10 ff.) zerfasern und in dieser Weise studieren.

Frische Nerven, einem eben getöteten Tiere, z. B. Frosch (Nervus ischiadicus), entnommen, werden auf dem Objektträger sorgfältig der Länge nach gefasert. Es empfiehlt sich, auch hier die Ranviersche Halbeintrocknungsmethode zu befolgen (siehe § 318). Ist die Prozedur fertig, so kann man physiologische Kochsalzlösung hinzusetzen und den eigentümlichen Glanz der Markscheide, den homogen erscheinenden Achsenraum, die Ranvierschen Einschnürungen, mitunter Lantermansche Segmente und selten die Kerne sehen.

418. Setzt man Wasser hinzu und namentlich destilliertes, so verändern sich in kürzester Zeit in eigentümlicher Weise die Markscheiden; es verschwinden die Ranvierschen Einschnürungen, später auch die Lantermanschen Segmente, und es treten innerhalb der Markscheide eigenartige Gerinnungen auf. An den freien Enden fliefst das Mark aus und gerinnt zu sehr typisch aussehenden Myelintropfen. Diese letzteren trifft man auch massenhaft, wenn man weifse Substanz des zentralen Nervensystems fasert.

Digitized by Google

419. Zu frisch hergestellten Zupfpräparaten kann man auch eine 1%ige Überosmiumsäure zusetzen und in einer feuchten Kammer $^1/_2$ Stunde einwirken lassen. Die Nerven sind fixiert, und die Markscheiden fangen an schwarz zu werden. Die Ranvierschen Einschnürungen bleiben farblos und heben sich dadurch scharf ab. Entfernt man die Osmiumsäure mit Fliefspapier, legt ein Deckgläschen auf die zerzupften Nerven, wäscht zunächst mit destilliertem Wasser, welches man von einer Seite des Deckglases zufliefsen läfst und auf der anderen mit einem Streifen Fliefspapier aufsaugt, und läfst dann anstatt des Wassers langsam Glycerin zufliefsen, so kann man in der letzteren Flüssigkeit dauernd einschliefsen (siehe § 160).

420. Zu frischen gezupften Präparaten kann man ferner wässerige Silbernitratlösung etwa $^1/_{10}$% hinzusetzen (auch nach § 268). Nach 5 Minuten entfernt man den Tropfen mit Fliefspapier und verfährt im übrigen wie im vorigen Falle, d. h. man wäscht mit destilliertem Wasser unter dem Deckglase, setzt allmählich Glycerin zu etc.

Man erhält auf diese Weise die bekannten **Ranvierschen Kreuze** und die Frommannschen (64) Linien; die letzteren pflegen erst später unter dem Einflusse des Lichtes zu erscheinen. Will man solche Präparate in Canadabalsam einschliefsen, so kann man Wasser durch Alkohol unter dem Deckglase ersetzen, den letzteren mit Nelkenöl; dieses wird mit Fliefspapier entfernt, und man läfst Canadabalsam hinzufliefsen.

Auch folgende Methoden können mit Vorteil in Anwendung gebracht werden:

421. Ein dünner Nerv, etwa der Ischiadicus eines Frosches, wird in situ auf einem Stückchen Holz mit Nähfäden aufgespannt, herausgeschnitten und mit einer $^1/_2$%igen Osmiumsäure etwa 12 Stunden behandelt. Der fixierte Nerv wird etwa $^1/_2$ Stunde mit destilliertem Wasser gewaschen, kommt dann direkt in absoluten Alkohol auf etwa zwei Stunden, wird in einem ätherischen Öle ebenso lange aufgehellt und kann nun auf dem Objektträger zerfasert werden. Es wird dazu aber nur das Stück gebraucht, welches zwischen den Schnürstellen gelegen ist, und zwar in einiger Entfernung, etwa $^1/_2$ mm von derselben entfernt. Solche gezupfte Präparate können direkt in Canadabalsam eingeschlossen werden, nachdem man das überflüssige Öl mit Fliefspapier entfernt hat.

Digitized by Google

422. Beliebig dicke Nerven, z. B. eines Säugetieres, werden in mäfsig gespanntem Zustande in eine $^1/_2$ bis $1^0/_0$ige wässerige Silbernitratlösung auf 12—24 Stunden gelegt, kurze Zeit mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol übertragen. Solche Nerven können entweder wie im vorigen Beispiel gezupft werden, oder aber nach den allgemeinen Regeln z. B. mit Paraffin durchtränkt und der Länge nach geschnitten werden. Es erscheinen nach kurzer Zeit im Lichte Ranviersche Kreuze und Frommannsche Linien und Grenzen der Endothelzellen der Perineurien (lamellöse Scheiden).

423. Vor Jahren hat Kühne (89) auf eigentümliche Netze innerhalb der Markscheide aufmerksam gemacht, die man vermittelst der Verdauung der Nervenfasern mit Trypsin gewinnen kann. Noch einfacher bringt man diese zur Anschauung, wenn man markhaltige Nerven mit Alkohol und Schwefeläther behandelt, zerfasert und mit Hämatoxylin, z. B. mit Böhmerschem, auf dem Objektträger färbt. Diese Netze, deren Präexistenz noch nicht strikte nachgewiesen ist, färben sich blau und sind die Hornspongiosanetze Kühnes.

424. Die **Schwannsche Scheide und die Kerne** studiert man an mit Osmiumsäure behandelten, gezupften und eventuell gefärbten Präparaten.

425. Die Henlesche Scheide untersucht man an sehr feinen Nerven, die man mit Silbernitrat behandelt nach der bei den Endothelien (siehe § 265) angegebenen Methode.

426. Behandelt man nach Fleischl (74) die Nerven, um sie zu fixieren, mit Chromsäure, Alkohol oder chromsauren Salzen und zerlegt sie in Quer- oder Längsschnitte, so sieht man keine diskreten Fibrillen im Axenraume mehr, sondern diese sind mehr oder minder zu einem dünneren (Chromsäure-) oder dickeren (Alkohol-) Faden zusammengebacken — sogenannter Axencylinder.

Um den **Axencylinder** zu isolieren, empfiehlt es sich, die Nerven mit sehr schwacher Chromsäure, etwa $^1/_{10}{}^0/_0$, oder mit schwachem doppeltchromsaurem Kalium in etwa $^1/_5{}^0/_0$iger Lösung oder in Holzessig (mit nachfolgender Safraninfärbung) einige Tage bis zu einer Woche zu behandeln und dann zu fasern. Es gelingt meistens beim Zupfen, die geronnene Markscheide stellenweise abzustreifen und so den sogenannten Axencylinder blofszulegen. Ganz besonders grofse Strecken des Axencylinders quellen hervor, wenn man zu den frisch gezupften Präparaten Eisessig zusetzt, eine Methode, die von v. Kölliker (93) empfohlen wird.

Digitized by Google

427. Um die **Fibrillen** Kupffers (83) im Axenraume zur Darstellung zu bringen, empfiehlt sich folgende Methode: Der Nervus ischiadicus eines Frosches z. B. wird bloſsgelegt, auf einem Stückchen Holz in seiner natürlichen Spannung mit Faden befestigt, ausgeschnitten, auf etwa 4 Stunden in $^1/_2$ %ige wässerige Überosmiumsäurelösung gebracht, ebensolange Zeit in destilliertem Wasser ausgewaschen und mit 90 %igem Alkohol etwa 24 Stunden nachbehandelt. Den so fixierten Nerven werden Stückchen von etwa $^1/_2$ cm Länge entnommen und in einer gesättigten, wässerigen Lösung des sauren Fuchsins 12 Stunden lang gefärbt und dreimal 24 Stunden in absolutem Alkohol nachbehandelt. Man durchtränke solche Stückchen in gewöhnlicher Weise mit Paraffin (belasse sie aber nur je $^1/_2$ Stunde in den Durchtränkungsflüssigkeiten und schneide möglichst dünn, nicht über 3 μ). Die Fibrillen erscheinen rot, das interfibrilläre Plasma farblos; am instruktivsten sind die Längsschnitte, welche mit besonderer Sorgfalt orientiert sein müssen.

Man kann ähnliche, jedoch nicht so schöne Resultate erzielen, wenn man statt des sauren Fuchsins Bismarckbraun und ähnliches in analoger Weise anwendet.

Die Gebilde des Axenraumes lösen sich in einer 1 ‰igen Salzsäurelösung und in einer 10 %igen Kochsalzlösung (Halliburton).

428. **Remaksche Fasern** werden am besten dargestellt, indem man den Sympathicus oder besser den Vagus eines Säugetiers mit Osmiumsäure behandelt und dann fasert. Zwischen den markhaltigen Fasern des Vagus findet man zahlreiche sympathische. Die letzteren bleiben bei dieser Behandlung ungefärbt.

429. Zum Studium der allgemeinen Verbreitung von **Nerven in Muskeln** empfiehlt sich 8—12 Tropfen Essigsäure auf 100 ccm destilliertes Wasser; kleine Muskeln werden darin in wenigen Stunden durchsichtig (Kölliker). Ebenso gute Dienste thut die Salzsäure 1 ‰ig, sie löst das Syntonin und verschont die Nerven (Engelmann).

430. Für die Darstellung der **Nervenenden in den quergestreiften Muskeln** wähle man, wenn möglich, kurze Muskeln, z. B. die Augenmuskeln. Solche werden ausgeschnitten, auf einem Objektträger ausgebreitet und mit Nadeln vorsichtig der Länge nach gefasert. Setzt man eine 1 %ige Essigsäure zu, bedeckt mit einem Deckglase, so treten nach ein paar Stunden die Nerven deutlich hervor, und man

Digitized by Google

kann diese bis in den Muskel verfolgen. Die Essigsäure-Präparate lassen sich nicht dauernd einschliefsen.

431. Injektionen von Methylenblaulösung in Kochsalz, die bei Säugern in die Venen direkt, beim Frosch in die Venen oder in den Lymphsack gemacht werden, führen auch zur Darstellung von Nervenenden.

Man verwende hierzu Methylenblau rectificat. (Ehrlich) für vitale Färbung (die Methode siehe § 477 ff.).

432. Für das Studium der Nervenendigungen überhaupt und der im Muskel insbesondere ist die von Cohnheim (67 a) (für Cornea zunächst) eingeführte sogenannte **Vergoldung** von Bedeutung. Die Vorschrift lautet: Kleinere Stücke (in unserem Fall Muskel) kommen in eine $^1/_2$%ige, mit einer Spur Essigsäure angesäuerte Goldchloridlösung, bis sie gelb werden (einige Minuten bis $^1/_2$ Stunde). Dann werden sie mit dest. Wasser flüchtig abgespült und bleiben in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser im Dunkeln stehen. In der Regel verändern die Stücke hierbei die Farbe, werden gelbgrau, grauviolett, rot, wofür unter Umständen 1—3 Tage nötig sind. Die günstigsten Stellen sucht man in den Nuancen von Violett zu Rot. — Die Goldmethode ist keine sichere. Sie führt gar oft zu schlechten oder gar keinen Resultaten, und man ist in den meisten Fällen nicht einmal im stande, die Fehlerquellen anzugeben.

433. Goldchlorid wird mit Wasserstoffhyperoxyd augenblicklich reduziert.

Von den für die Nervenenden im Muskel gebräuchlichen Methoden nennen wir als die zwei sichersten die Löwit-Fischersche und die Ranviersche.

434. Die **Löwitsche** (Löwit, 75, Fischer, 76, Bremer, 82) **Methode.** Kleine Muskelstücke (1 mm) werden in $^1/_3$ Ameisensäure (Ameisensäure 1, destilliertes Wasser 2) gelegt, bis sie durchsichtig werden (1 Minute). Sie werden alsdann in eine kleine Quantität einer 1%igen Goldchloridlösung auf etwa $^1/_4$ Stunde übertragen, in dieser Flüssigkeit werden sie gelb. Die Stücke kommen in die $^1/_3$ Ameisensäure zurück und verbleiben darin 24 Stunden in der Dunkelheit; man kann sie dann auf ebenso lange in eine konzentrierte Ameisensäurelösung übertragen, in welcher sie ebenfalls im Dunkeln gehalten werden.

Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen und auf dem Objektträger gezupft. Die centrale Partie der Stücke ist gewöhnlich violett, die periphere schmutzigbraun. Zwischen den beiden Schichten liegen Muskelfasern,

Digitized by Google

welche die am besten tingierten Nerven- und Nervenendapparate aufweisen.

435. Kühne (86) säuert mit $^1/_2$ %iger Ameisensäure vor, behandelt die Stücke mit 1 %igem Goldchlorid und reduziert mit 20- bis 25 %iger Ameisensäure, gelöst in Glycerin und Wasser zu gleichen Teilen.

436. Ranvier (89) behandelt Muskelstücke, bevor er sie in eine 1 %ige Goldchloridlösung überführt, mit Zitronensaft. (Ranvier macht darauf aufmerksam, dafs nur frisch gereifte Zitronen geeignet sind, dieselben werden ausgeprefst und durch Flanell filtriert.) Im Zitronensaft verbleiben die Stücke, bis sie durchsichtig werden (Minuten!); von da überträgt man die Stücke in eine 1 %ige Goldchloridlösung auf ca. 20 Minuten; mit destilliertem Wasser kurz abgespült, kommen sie in ein schwach angesäuertes Wasser (1 Tropfen Eisessig auf 30 ccm Wasser), worin sie 24—48 Stunden im Lichte stehen gelassen werden. Bei so behandelten Stücken ist die Reduktion des Goldes keine vollkommene, deshalb dunkeln die daraus gewonnenen Präparate in der Regel nach; dies ist nicht der Fall, wenn man statt des schwachen Essigsäurewassers $^1/_3$ Ameisensäure (wie bei Löwitscher Methode) 24 Stunden im Dunkeln einwirken läfst.

437. Golgi (80, siehe 94) säuert mit $^1/_2$ %iger Arsensäure vor, statt Goldchlorid gebraucht er Goldchloridkalium $^1/_2$ %ig $^1/_2$ Stunde, spült mit Wasser ab und bringt dann in 1 %ige Arsensäure, worin die Reduktion im Sonnenlichte vor sich geht.

438. Muschenkoff empfiehlt:

Objekte, nicht über $^1/_2$ ccm, kommen entweder in eine 2 %ige doppeltchromsaure Ammoniaklösung oder in doppelchromsaures Kalium derselben Konzentration auf etwa 30 Tage. Nach dem Waschen werden die Stücke in frischen Zitronensaft oder in 20 % Ameisensäure auf 15—20 Minuten übertragen. Nach Abspülen mit destilliertem Wasser werden die Stücke in eine $^1/_2$ %ige Goldchlorid- oder Goldchloridkaliumlösung auf $^1/_2$ Stunde eingelegt. Reduziert wird in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser.

439. Die Vergoldungsmethoden sind alle unsicher. Am leichtesten gelingen die Vergoldungen bei Reptilien (unter diesen bei Pseudopus Pallasii), dann kommen die Säuger. Ungünstig sind die Vögel, Amphibien und Fische. Augenmuskeln der Knochenfische sollen aber günstig sein.

Digitized by Google

440. Golgis Nervenendorgane in den Sehnen der Säugetiere und Vögel werden gleichfalls durch Vergoldung dargestellt.

441. Negro (87) empfiehlt, namentlich für Eidechse und Frosch, Hämatoxylin, um an frischen Muskeln in wenigen Minuten die Nervenenden sichtbar zu machen.

442. Gad (95) teilte folgende Methode von Sihler zur Darstellung der Nervenenden in den quergestreiften Muskeln mit: Muskelbündel in der Dicke eines Gänsekieles werden auf etwa 18 Stunden in

1.	Gewöhnliche Essigsäure	1
	Glycerin	1
	Chloralhydratlösung (1% wässerig)	6

eingelegt, in reinem Glycerin weiter gezupft uud dann in die Färbeflüssigkeit:

2.	Ehrlichsches Hämatoxylin . . .	1
	Glycerin	1
	Chloralhydratlösung 1%ige . . .	6

übertragen, worin die Stücke 3—10 Tage verweilen. Die Stücke werden nun in Essigsäure-Glycerin eingelegt, worin die Farbe differenziert wird und zwar so, dafs die Nerven und Nervenenden an den Muskeln und Gefäfsen intensiv tingiert werden, das übrige hell erscheint. Aus der Farbe 2 kann man die Stückchen in reinem Glycerin aufheben und erst später mit Essigsäure (Lösung 1) behandeln. Nach Sihler auch von Balter für sensible Organe des Muskels empfohlen.

443. Die Vergoldung der Nervenenden in der glatten und in der Herzmuskulatur ist eine äufserst unsichere.

444. Stöhr (94) empfiehlt folgende Methode: Eintauchen in eine Mischung von 8 Teilen Goldchlorürlösung zu 1% und 2 Teilen reiner Ameisensäure (die Mischung ist dreimal gekocht worden), 40—55 Minuten lang. Auswaschen in destilliertem Wasser. Übertragung in eine Mischung von reiner Ameisensäure, 10 Teile, und destilliertem Wasser, 40 Teile. Reduktion am Licht 36 Stunden lang. Einige Stunden in angesäuertem Glycerin.

Literatur zu Kap. 7: Ranvier (78 und 80).

8. Kapitel.

Rückenmark, Gehirn und Ganglien.

445. Beim Herausnehmen des Gehirns und Rückenmarks verfahre man so, dafs man zuerst Haut und Muskeln in den betreffenden Partien möglichst vollständig entfernt. Der Rückenmarkskanal wird dann mit einer Knochen-

Digitized by Google

zange eröffnet, die Schädelhöhle kann bei kleinen Tieren, z. B. manchen Fischen, Fröschen etc., mit dem Messer, bei jungen Meerschweinchen, Kaninchen der Hauptsache nach mit einer starken Pincette eröffnet werden; soweit dies möglich ist, gibt es meist bessere Resultate, als wenn bei kleineren Tieren die Anwendung von Knochenzange oder Säge nötig wird. Ist das Gehirn resp. Rückenmark freigelegt, so geht der Herausnahme der Teile das Durchschneiden der zugehörigen Nerven voraus. In die Fixierungsflüssigkeit werden die Stücke auf Filtrierpapier- oder Wattebäusche eingelegt oder an einem weifsen Faden eingehängt. Gehirn und Rückenmark grofser Säugetiere, die man sich aus dem Schlachthaus verschaffe, geben auch noch, wenn sie erst einige Stunden nach dem Tode des Tieres eingelegt werden, wenigstens gute Orientierungsbilder. Geeignete Fixierungsflüssigkeiten sind hierfür Kalium bichromicum, Müllersche Flüssigkeit, auch Alkohol, und bei frischen Präparaten Sublimat.

446. Um **Ganglienzellen zu isolieren**, hat man eine Reihe von Methoden angegeben, die das mühsame Herauszupfen erleichtern.

447. Eine 1‰ige Osmiumsäure oder $^1/_3$ Alkohol (siehe § 257) wird in das Vorderhorn des Rückenmarks z. B. durch Einstechen injiziert, die so fixierte Stelle herausgeschnitten, gezupft und in Glycerin eingeschlossen.

448. Kleinere Stücke aus den Vorderhörnern z. B. des Rückenmarks werden herausgeschnitten und maceriert. Dazu können folgende **Isolations-Flüssigkeiten** verwendet werden, in welche Stückchen bis zu $^1/_2$ ccm eingelegt werden:

449. $^1/_3$ Alkohol 1—2 Wochen (Ranvier).

450. Jodserum, Max Schultze (64), 24 Stunden.

451. 0,5—0,25‰ige Chromsäure auf 3, 5 Tage und länger.

452. 1‰ige Kalium bichromicum-Lösung 2 Wochen.

453. 1‰ige Osmiumsäure 24 Stunden und länger.

Durch Schütteln oder Zupfen lassen sich dann die Ganglienzellen isolieren. Die Präparate werden in Wasser oder Glycerin untersucht, sie können vorher durch Zusatz zum Glycerin, von etwas Eosin z. B., gefärbt werden.

454. Zur Isolation kann man sich auch eines Wasserstroms bedienen. Dünne Scheiben von Rückenmark, frisch oder kurze Zeit etwa mit schwacher Osmiumsäure behandelt, werden mit einem Strahl von Wasser intensiv abgespült; Gefäfse und Ganglienzellen pflegen dann in leidlichem Zustande übrig zu bleiben.

Digitized by Google

455. Gewisse Strukturen, auf die man bis jetzt nur wenig achtete, lassen sich relativ leicht in den Ganglienzellen darstellen. Nissl (95) und Flemming (95 b S. 380 Anm. 6). An in Alkohol fixierten Präparaten, welche in Thionin gefärbt wurden, oder an in Alkohol oder Sublimat behandelten, mit nachträglicher Färbung mit basischen Anilinfarben (s. § 204) oder Hämatoxylin sieht man »tingible Körper« in den Ganglienzellen deutlich abstechen.

456. Die Nisslsche Methode (Nissl, 94a) besteht in folgendem: Die Objekte werden in allmählich steigendem Alkohol fixiert, Stücke davon werden auf Kork oder Holzklotz mit Fischleim oder Gummi aufgeleimt und am besten ohne vorherige Durchtränkung (Paraffinmethode ist jedoch nicht ausgeschlossen) mit Spiritus von etwa 80 % befeuchtet geschnitten; die Schnitte werden in einem Uhrschälchen mit Methylenblau R. pat. 3,75 g, geschabter venetianischer Seife 1,75 g, gelöst in 1000 ccm destilliertem Wasser — gefärbt, dabei erwärme man die Lösung, bis Blasen aufsteigen. Man differenziert die Schnitte in Anilinöl 20 ccm, Spiritus von 90 % 200 ccm, bis keine gröberen Farbwolken mehr abgehen. Der auf den Objektträger gebrachte Schnitt wird mit Fliefspapier getrocknet, mit Origanum- oder Cajeputöl aufgehellt, wieder mit Fliefspapier getrocknet, mit Benzin geschwemmt, um das Öl zu vertreiben, und Kolophonium, in Benzin gesättigte, filtrierte Lösung, darauf gebracht. Der Objektträger wird durch die Flamme gezogen (Vorsicht! Benzin fängt Feuer — brennt Benzin an, so wird die Flamme sofort ausgeblasen), bis Benzin verdunstet ist. Man bedecke nun mit einem Deckglase.

457. Eine zweite Nisslsche Methode, welche auch nach Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit gute Resultate liefert, ist: Schneiden, wie bei der vorigen, Färben der Schnitte über der Flamme, bis Dampfwolken aufsteigen, in konzentrierter wässeriger Fuchsin-(Magenta)Lösung, Waschen in abs. Alkohol 1—2 Minuten, Differenzieren in Nelkenöl, Canadabalsam.

458. Für Granula der Ganglienzellen empfiehlt Cox (98), in einer der drei folgenden Mischungen zu fixieren:

Mischung 1: Sublimat gesättigt 30, 1 %ige Osmiumsäure 10, Eisessig 5;
» 2: Sublimat gesättigt 15, 5 %iges Platinchlorid 15, 1 %ige Osmiumsäure 10, Eisessig 5;
» 3: Sublimat gesättigt 30, Formol 10, Eisessig 5.

Digitized by Google

Einwirkung 2—3 Tage, Auswaschen, 60, 70, 90, 98 %iger Alkohol, Alkohol-Bergamottöl, Bergamottöl, Paraffin-Bergamottöl, Paraffin. Aufkleben mit Wasser-Eiweifs. Paraffin wird mit Xylol entfernt, Alkohol, dann in Tannin von 20—25 % auf 8 Stunden, dann 5 Minuten waschen, dann

entweder in Eisenoxyd-Ammonium-Sulfat (2,5 %) 5—10 Minuten lang,

dann in I: Phenol (2 %ig) 15, dazu 1—2 ccm von folgendem, 5 Minuten lang auf dem Wasserbade zu kochendem Gemisch: Methylenblau 2, Kalium-Karbonat 2, Wasser 200,

oder in Brechweinstein (5 %ig) 5—10 Minuten lang

dann in II: ein Gemisch von 5 %igem Alaun 10, 5 %igem Indoidinblau BB 20 (resp. besser: Baumwollblau BB) (Anilin- und Sodafabrik E. Merk, Ludwigshafen).

In Flüssigkeit I oder II wird 12—18 Stunden gefärbt, dann in vielem Wasser abgespült; die Schnitte werden mit Filtrierpapier getroknet mit einer Mischung von Xylol 90 zu 95 %igem Alkohol 60, dann mit reinem Xylol behandelt und in Canadabalsam (unverdünnt durch Erwärmen flüssig gemacht) eingeschlossen. Ist die Färbung zu stark, so entfärbt man mit Unnas Alaun-Anilin (Zeitsch. f. wiss. Mikrosk. Bd. 12, p. 560).

Ist mit Mischung 3 fixiert worden, so färbe man mit Methylenblau (obiges Rezept) ohne Beize 24 Stunden, dann Wasser, Xylol-Alkohol etc.; auch Delafieldsches Hämatoxylin färbt in diesem Falle gut.

459. Lenhossék (98) und Holmgren (99) empfehlen die unverdünnte Rablsche Lösung (s. § 61) für Nervenzellen Färbung: Toluidin und Erythrosin (wird wie Eosin angewandt), (intracelluläre Kanälchen!).

Um die Zellenfortsätze und die Faserzüge innerhalb des Centralnervensystems darzustellen und namentlich die sogenannten hirschgeweihähnlichen Fortsätze der Purkinjeschen Zellen des Kleinhirns ist die folgende alte **Methode von Gerlach** (71 und 72) noch immer zu empfehlen:

Die mit Kalium bichromicum oder Müllerscher Flüssigkeit fixierten Stücke werden senkrecht auf die Windungen geschnitten und die Schnitte mit einer sehr verdünnten Karminlösung längere Zeit gefärbt. (Gerlach verwandte die heute nicht mehr gebräuchliche ammoniakalische Karminlösung.)

460. Zur Färbung der Axencylinder im Rückenmark empfiehlt Schmaus (91) folgendes Verfahren: 1 g karminsaures Natron wird mit $^1/_2$ g Uranum nitricum in einer Reibschale verrieben, das Ganze in 100 g Wasser $^1/_2$ Stunde lang gekocht und nach dem Erkalten filtriert. Färbung

Digitized by Google

von Rückenmarkschnitten in 15—20 Minuten; die Lösung überfärbt aber auch nach 24 Stunden nicht; ausgewaschen in Wasser, dann Alkohol etc. Die Methode läfst Celloidin so gut wie ungefärbt. Bedingung: Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit, Alkohol (nicht auswässern).

461. Die Fasern der weifsen Substanz lassen sich (in kleinsten Stückchen) mit Silbernitrat behandeln (§ 422) und zeigen dann Frommannsche Linien.

462. Für Rückenmark leistet (Ganglien und Fasern) eine weitere Methode, die ebenfalls von Gerlach (71/72) herrührt, Hervorragendes. Rückenmark vom Kind wird in einer 1—2%igen, doppeltchromsauren Ammoniaklösung 2—3 Wochen lang fixiert, geschnitten und in eine Goldchloridkaliumlösung 1 auf 10,000, welche mit Salzsäure ganz schwach angesäuert ist, auf 10—12 Stunden gelegt. Es werden die Schnitte in $^1/_2$—$^1/_3$‰iger Salzsäure gewaschen und kommen in 60%igen Alkohol mit 1‰iger Salzsäurelösung auf 10 Minuten. Nachdem das Präparat durch absoluten Alkohol und Nelkenöl in Canadabalsam übergeführt ist, sieht man die Nerven erst blafs, nach einigen Stunden sehr deutlich. Solche Präparate, wenn sie recht gut gelungen sind, konkurrieren geradezu mit den Golgischen. Die Herstellung derselben ist aber bei weitem keine so sichere, und es dunkeln die Präparate oft in Canadabalsam so nach, dafs sie unbrauchbar werden.

463. Ströbe (93) empfiehlt zur Axencylinderfärbung im centralen und peripheren Nervensystem: 10 μ dicke Celloidinschnitte von in Müllerscher Flüssigkeit 4—5 Monate fixierten Präparaten werden in gesättigter wässeriger Anilinblaulösung 10 Minuten bis $^1/_2$ bis 1 Stunde gefärbt, Abspülen in Wasser, Differenzierung in Ätzkali-Alkohol (1 g Kali causticum in 100 ccm Alkohol 24 Stunden stehen, davon 20 bis 30 Tropfen auf eine Schale Alkohol), bis sie hellbraunrot geworden sind (eine bis mehrere Minuten), destilliertes Wasser 5 Minuten (hier werden die Schnitte blau), Nachfärbung in konzentrierter wässeriger Safraninlösung, die zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist; $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang. Alkohol absolutus, Xylol, Canadabalsam. — Resultat: Axencylinder blau, Markscheide farblos mit blauen Pünktchen, Schwannsche Scheide rot.

Für Färbung der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer in den Centralorganen hat Golgi folgende Methoden angegeben:

464. Sublimatmethode. Golgi (94) behandelt frische Stücke der Centralorgane von 1—2 cm Durchmesser 2 bis 3 Wochen lang mit der Müllerschen Flüssigkeit oder mit doppeltchromsaurem Kalium allein, letzteres in von 3 auf 5% ansteigender Lösung. Es kommen weiterhin die Stücke in eine

Digitized by Google

$^1/_4$- bis $^1/_2$ %ige Sublimatlösung, die oft zu wechseln ist, auf 8—10 Tage und darüber. Sie können nun geschnitten, gut gewaschen und entweder in Glycerin oder Balsam aufbewahrt werden. Besonders günstig für diese Methode ist die Grofshirnrinde. Es sind jedoch die Resultate der Methode nicht konstant, es färben sich, wie auch bei den folgenden Golgischen Methoden, einmal Ganglienzellen, ein anderes Mal die Gliazellen und die Gefäfse. Das Gefärbte erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz.

465. Pal empfiehlt, um die Schnitte reiner zu erhalten, die Nachbehandlung derselben mit Natriumsulfid. Auch die Präparate, die statt mit Sublimat mit Silbernitrat behandelt worden sind, werden nach Pal mit Vorteil mit Natriumsulfid $^1/_2$—1%) abgespült.

466. Cox (90 und 91) empfiehlt folgende Methode: Nicht zu grofse Stücke der nervösen Centren werden mit

5%iger Lösung von Kalium bichromicum	20 Teile
5%iger Lösung von Sublimat	20 »
Aqua destillata	30—40 »
8%iger Lösung von chromsaurem Kalium (von starkalkalischer Reaktion) . .	16 »

2—3 Monate lang im Winter und mindestens einen Monat im Sommer behandelt. Kürzere Behandlung mit Alkohol (Stunden). Bei jungen Tieren geht die Methode besser wie bei erwachsenen (am besten beim einen Monat alten Kaninchen). — Färbt in erster Linie marklose Fasern.

G. Günther (vgl. Schaffer, 96) beläfst die Stücke auf acht Tage in Coxscher Lösung im Thermostat bei Körpertemperatur, wäscht sorgfältig aus, behandelt eventuell länger mit Alkohol und durchtränkt mit Celloidin. Eine nachträgliche Reduktion der Schnitte in Goldchlorid oder schwacher Ammoniaklösung (zwei bis drei Tropfen auf ein Uhrglas Wasser) durch fünf Minuten macht die imprägnierten Ganglienzellen und Nervenfasern so widerstandsfähig, dafs die Schnitte nachgefärbt, allenfalls mit verdünnten Säuren behandelt und unter dem Deckglas eingeschlossen werden können.

467. Eine weitere Methode Golgis (94), bei welcher die Färbung auf Bildung **dichromsauren Silbers** beruht, besprechen wir eingehender, indem wir zunächst dem Autor selbst folgen:

Im Jahre 1875 gebrauchte Golgi seine Methode in folgender Weise: Er fixierte (Bulbus olfactorius) in Müllerscher Flüssigkeit, wobei er den Gehalt an chromsaurem Kali beim Wechseln der Flüssigkeit etwas erhöhte (bis 4 g). Die Fixierung dauerte im Sommer 5—6 Wochen, im Winter 3—4 Monate und darüber. Dann behandelte er Stücke der Objekte (nach 3 Monaten im Winter und nach 30—40 Tagen im Sommer) alle 4—5 Tage probeweise mit Silbernitrat (von $^1/_2$—1%). Im

Digitized by Google

Sommer dauerte die Versilberung 24, im Winter 48 Stunden. Es ist aber ein längeres Verweilen im Silber zulässig. Diese Methode ist insofern als eine kapriziöse zu bezeichnen, als man die Zeit des Verweilens der Stücke in der Müllerschen Flüssigkeit ganz genau abpassen mufs, da die Zeit der Einwirkung von der Temperatur in Abhängigkeit steht. Ist einmal die Silberreaktion eingetreten, so können die Stücke entweder in der Silberlösung selbst oder in Alkohol weiter aufbewahrt werden. Die Objekte werden schliefslich in abs. Alkohol ausgewaschen, mit Kreosot aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen. Die Färbung geht in kurzer Zeit verloren.

Im Jahre 1885 hat Golgi weiteres über seine Methode mitgeteilt, indem er für die Fixierung neben der Müllerschen Flüssigkeit auch das reine doppeltchromsaure Kali empfahl. Es werden 1—1½ ccm grofse Stücke des Hirns und Rückenmarks, am besten frisch getöteter Tiere, verwendet (mitunter gelingt die Reaktion auch 24—48 Stunden nach dem Tode). Man fixiere in Kaliumbichromat in allmählich steigender Konzentration (von 2—5%) in nicht zu wenig Flüssigkeit und in gut verschlossenen Gefäfsen. Selbstverständlich mufs die Flüssigkeit oft erneuert und, um Schimmelbildung zu vermeiden, Kampher oder Salycilsäure zugefügt werden.

Es ist nun sehr schwer zu bestimmen, wann die Fixierung in Kaliumbichromat ihren für die spätere Einwirkung des Silbernitrats günstigsten Zeitpunkt erreicht hat, was von der Temperatur und der Menge der Flüssigkeit in Abhängigkeit steht. Man ist also auch hier auf das Ausprobieren angewiesen. Man kann etwa nach 6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge hat oder nicht. Diese Versuche wiederhole man alle 8 Tage.

Auch hier ist die Silbernitratlösung ⅔%ig zu nehmen (etwa ½ Trinkglas auf 1 ccm Objekt). Zuerst entsteht ein üppiger Niederschlag. Die Silberlösung mufs dann gewechselt werden, eventuell nach einigen Stunden noch einmal. Nach 24 bis höchstens 48 Stunden ist die Behandlung gewöhnlich zu Ende, worauf die Schnitte sorgfältig mit absolutem Alkohol entwässert, in Kreosot aufgehellt und ohne Deckglas in Canadabalsam aufgehoben werden.

Heute sind vor allem zwei Modifikationen der Golgischen Methode gebräuchlich, welche als die langsame und die rasche bezeichnet werden.

468. Bei der langsamen Methode Golgis werden die Stücke zunächst mit einer von 3 auf 5% rasch ansteigenden Lösung von Kalium bichromicum, welches mehrmals gewechselt werden mufs, behandelt. Die Dauer der Fixierung hängt von der Temperatur und der Menge der Flüssigkeit

Digitized by Google

ab. Man ist daher auf Ausprobieren angewiesen. Man kann nach 4—6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge hat oder nicht. Im letzteren Falle wiederhole man den Versuch alle 8 Tage. Die Stücke werden aus dem Kalium bichromicum in eine $^1/_2$- bis 1%ige salpetersaure Silberlösung übertragen, welche eventuell nach einigen Stunden noch einmal zu wechseln ist. Die Reaktion vollzieht sich meist in 20—30 Stunden. Dieses Verfahren gibt keine konstanten Resultate.

469. Rascheres Arbeiten gestattet folgende Methode Golgis (94): Die Stücke werden vorbehandelt in 8 Teilen einer 2%igen Kalium bichromicum-Lösung, gemischt mit einem Teil einer 1%igen Osmiumsäurelösung, und dann (schon nach 2—3 Tagen) in eine $^1/_2$- bis 1%ige Lösung von salpetersaurem Silber übertragen.

470. Ramon y Cajal (94b) hat letztere Methode folgendermafsen modifiziert: Die Stücke kommen auf 3 Tage in 3%ige Kalium bichromicum-Lösung, 4 Vol., 1%ige Osmiumsäurelösung, 1 Vol., und dann auf 1—2 Tage in eine $^3/_4$%ige Silbernitratlösung; nur für sehr kleine Stücke, namentlich für Centralnervensystem von Embryonen, geeignet.

471. Gelingt die Golgische Methode nicht (dies gilt für alle Modifikationen), so kann man die Präparate in Kalium bichromicum-Osmiumsäure mit etwas schwächerem Osmiumsäuregehalt zurückbringen und nach 24—48 Stunden abermals in Silber übertragen und diese Prozedur eventuell wiederholen.

472. Zur Anwendung des Formols bei der Golgischen Methode verfährt Kopsch (96) folgendermafsen: Kurz vor dem Gebrauch werden zu 40 ccm einer 3,5%igen Kalium bichromat-Lösung 10 ccm Formol gegossen; hierein kommen die Organstückchen und zwar mehrere je bis zu 2 ccm Substanz auf 50 ccm Flüssigkeit. Bei gröfseren Stücken ist die Flüssigkeit nach 12 Stunden zu wechseln. Nach 24 Stunden wird die Flüssigkeit durch 3,5%ige Kalium bichromat-Lösung (ohne Formolzusatz) ersetzt. Übertragen in 0,75%ige Silberlösung für Leber, Magen, Netzhaut schon am zweiten Tag, für letztere auch wie für Centralnervensystem nach 3—6 Tagen.

473. Es werden die Stücke in 40%igen und dann in absoluten Alkohol übertragen und geschnitten (die Paraffin-

Digitized by Google

methode, in möglichst kurzer Zeit durchgeführt, ist nicht ausgeschlossen). Die Schnitte dürfen aber nicht mit einem Deckglase bedeckt werden. Man überträgt sie deshalb auf ein Deckgläschen in eine dicke Canadabalsamlösung, welche rasch hart wird. Dieses Deckgläschen wird in ein hölzernes Rähmchen oder in einen durchbohrten Objektträger eingesetzt und die Schnitte von der Seite des Deckglases untersucht.

Weniger empfiehlt sich ein Verfahren, das allerdings rascher zu arbeiten gestattet, nämlich die Schnitte auf den Objektträger ohne Deckglas in Canadabalsam einzuschliefsen. Einmal gestattet dies, nur mit schwacher Vergröfserung zu untersuchen, und auch hierbei stört die nie vollständig glatt bleibende Oberfläche der Canadabalsamschicht.

474. E. Kallius (92) reduziert das chromsaure Silber direkt in metallisches durch den sog. »fünffachen Hydrochinonentwickler« (5 g Hydrochinon, 40 g Na. sulfurosum, 75 g Kalium carbonicum, 250 ccm Aq. dest.). Man nimmt von diesem Präparate 20 ccm auf 230 ccm dest. Wasser. (Diese Lösung hält sich wochenlang gut verschlossen im Dunkeln.) Mit dieser Lösung, welche vor dem Gebrauche mit $^1/_3$ bis höchstens $^1/_2$ des Vol. abs. Alkohol vermischt wird, werden die Schnitte mehrere Minuten in einem Uhrschälchen behandelt, bis sie dunkelgrau bis schwarz werden. — Um zu kontrollieren, ob die Reduktion vollendet ist, lege man einen Schnitt in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Na., worin alles chromsaure Silber gelöst wird (das reduzierte metallische aber nicht). Um die grauschwarze Färbung der Schnitte zu entfernen, verfahre man also: Aus der Hydrochinonlösung kommen die Schnitte auf 10—15 Minuten in 70%igen Spiritus, dann auf 5 Minuten in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Natron und zuletzt in eine gröfsere Schale Aq. dest. auf längere Zeit bis 24 Stunden. Man darf die Schnitte dann entwässern und in Canadabalsam überführen, oder aber färben (Karmin, Hämatox., Naphthylaminbraun werden vorgeschlagen) und dann in Canadabalsam einschliefsen. — Die Behandlung der Schnitte mit Kalilauge oder mit salzsaurem Alkohol ist ebenfalls zulässig.

Für § 467—474 vergleiche auch Riese (91).

475. Kronthals (99) Methode als Ersatz für die Golgi-Ramon y Cajalschen.

Digitized by Google

Wenn man in eine wässerige Lösung von Plumbum aceticum langsam Ameisensäure eintröpfelt, so bilden sich feine, weifse Krystallnadeln, die unter allmählichem weiterem Zutropfen von Ameisensäure schliefslich das ganze Gefäfs erfüllen. Dieses ameisensaure Blei ist im Wasser sehr viel schwerer löslich als das essigsaure Blei, weshalb auch bei der Reaktion Essigsäure frei wird.

Von dem ameisensauren Blei wird die Flüssigkeit abfiltriert und der Rückstand in Wasser derart gelöst, dafs es eine gesättigte wässerige Lösung von ameisensaurem Blei gibt. In ein Gemisch von gleichen Teilen dieser Lösung und einer 10%igen Formalinlösung (also mit 4% Formaldehydgehalt) bringe man jetzt die frischen, d. h. vorher in keiner anderen Flüssigkeit gewesenen Stückchen Gehirn oder Rückenmark für 5 Tage und übertrage sie dann, ohne auszuwaschen, direkt in ein Gemisch von gleichen Teilen 10%iger Formalinlösung und Schwefelwasserstoff-Wasser. (Man giefse von diesem Gemisch, um es nicht durch das Einwerfen der Präparate stark zu färben, vorher etwas über die Stückchen weg.) In dem Schwefelwasserstoff-Wasser-Formalingemisch bleiben die Präparate ebenfalls 5 Tage. Dann überführt man die Stückchen durch steigenden Alkohol in Celloidin, schneidet, hellt mit Karbol-Xylol auf und hebt die Präparate in Xylolcanadabalsam unter Deckglas auf. Die Präparate halten sich unverändert. Die Färbung beruht auf Bildung von Schwefelbleiniederschlägen in den nervösen und Gliaelementen.

476. Corning 1900 teilt mit, dafs er die Kronthalsche Methode an in 10% Formalin fixiertem Material anwendet, jedoch mit folgender Modifikation: statt des ameisensauren Bleis, aus essigsaurem Blei und Ameisensäure hergestellt, wendet er Plumbum formicicum (bezogen von Merck in Darmstadt) an.

477. Ehrlichsche Methylenblaumethode: (Ehrlich, 85, Arnstein, 87, Dogiel, 90) Methylenblau (siehe auch § 431) in physiologischer Kochsalzlösung (1:300) 3—5 ccm werden in eine Vene resp. in den Lymphsack eines Frosches eingespritzt. (Beim Kaninchen wird z. B. in die Vena jugularis ext. eingespritzt.) Nach ein paar Stunden werden Nerven, sympathische Ganglienzellen, Muskeln etc. untersucht. An der Luft wird die Färbung intensiver. Man sieht unter Umständen präcis tingiert die Nervenausbreitung im

Digitized by Google

Muskel, besonders deutlich die Spiralfasern der sympathischen Ganglienzellen, Nervenfibrillen, einzeln und verschmolzen im Axenraum der markhaltigen Fasern u. s. f.

Mit Methylenblau ist auch eine Färbung überlebender Gewebe möglich. Solche Präparate kann man wenigstens einige Zeit in Jod-Jodkalium (siehe dieses) oder in pikrinsaurem Ammoniak aufbewahren.

Auch die folgende Flüssigkeit wurde von S. Mayer empfohlen: Konzentrierte Lösung von pikrinsaurem Ammonium in Wasser wird zur Hälfte mit Glycerin versetzt und dieses sehr allmählich den Präparaten zugesetzt.

478. Dogiel benutzt eine 1 ‰ige Lösung von Methylenblau rectificat. in physiologischer Kochsalzlösung und verfährt z. B. mit dem Auge folgendermafsen: Dasselbe wird äquatorial halbiert, die Retina wird isoliert, auf einem Objektträger mit der Stäbchen-Zapfenschicht gegen denselben ausgebreitet, dann werden 1—2 Tropfen der Farblösung auf den Glaskörper gebracht und das Präparat mit einer Uhrschale bedeckt, um vor dem Trocknen zu schützen. Nach 2—3—4 Stunden erscheinen die Nerven gefärbt. Ist die maximale Färbung da, so wird konzentrierte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammoniak (allein oder mit Spuren von Osmiumsäure) zugesetzt. Einwirkung einen Tag. Es ändert sich die Farbe und dieselbe wird zugleich fixiert. Man entfernt dann die pikrinsaure Ammoniaklösung mit Filtrierpapier und bewahrt in Glycerin auf.

Meyer (95, 96) empfiehlt eine subcutane Injektion einer 1 %igen Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung z. B. 20 ccm einem jungen Kaninchen. Nach zwei Stunden wird die Injektion wiederholt. Nach weiteren zwei Stunden ist das Tier gewöhnlich tot. Man präpariert nun Centralnervenorgane heraus und fixiert kleine Stücke davon nach Bethe (siehe § 479).

479. Bethe (95) empfiehlt für die Methylenblaufixation bei Wirbeltieren folgendes Gemisch:

Ammoniummolybdat	1 g
Aqua destillata	10 ccm
Wasserstoffsuperoxyd	1 ccm
Acidum hydrochloricum offic. .	1 Tropfen.

In dieser Fixierungsflüssigkeit, die möglichst kalt sein soll (+ 2° bis — 2°) bleiben die zu fixierenden Gewebsteile, kleinere 2—3, gröfsere bis zur Ausdehnung von 1 ccm 4—5 Stunden, hernach noch einige Zeit bei Zimmertemperatur. Auswaschen mit Aqua dest. 1/2 bis 2 Stunden,

Digitized by Google

entwässern mit (kaltem) Alkohol, Xylol. Durchtränkung mit Paraffin oder Celloidin. Nachfärbung mit Alaunkarmin und den Anilinfarben möglich. — Setzt man der Fixierungsflüssigkeit, in der das Präparat schon einige Zeit gelegen hat (fettreiche Gewebe ausgeschlossen), Osmiumsäure zu, so wird die entstehende Methylenblauverbindung alkoholbeständiger und dunkler blau. Auch Nachbehandlung der Schnitte mit Osmiumsäure ist möglich.

480. Später wurde durch Bethe, 96, namentlich um die niedere Temperatur der vorigen Methode zu umgehen, folgendes Verfahren empfohlen: Nach dem Vorgange von Smirnów und Dogiel benutzt er als Vorfixierungsflüssigkeit eine konzentrirte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium (Ammoniumpikrat), in welcher die mit Methylenblau behandelten, nicht zu grofsen Objekte 10—15 Minuten verweilen. Ohne zu spülen, überträgt man dicke Objekte (für Totalpräparate) 1. in Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser 20 g und offiz. Salzsäure 1 Tropfen. Für dieselben Zwecke dienen auch folgende Mischungen: 2. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser — 10 g, 2 % Chromsäurelösung — 10 g und Salzsäure — 1 Tropfen. Für Schnittzwecke oder bei sehr dünnen Totalpräparaten verwende man 3. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser — 10 g, ½ % Osmiumsäure — 10 g und Salzsäure 1 Tropfen. In sub 1 und 2 genannten Flüssigkeiten belasse man kleine Objekte ¾—1 Stunde (nicht länger), in sub 2 angegebenen 4—12 Stunden. Nach dem Fixieren wird in Wasser gewaschen, in Alkohol übergeführt und durch Xylol in Paraffin übertragen. Eine Nachfärbung mit Alaunkarmin, Alauncochenille und mit neutralen Anilinfarben kann ausgeführt werden.

481. Apáthy (97) stellt die leitenden Elemente des Nervensystems bei wirbellosen (hauptsächlich Hirudineen) und Wirbeltieren vermittelst einer eigens ausgearbeiteten Goldmethode dar. Man kann a) frische (»Vorvergoldung«) und b) vorher konservierte Objekte (»Nachvergoldung«) mit Gold behandeln. Im ersteren Falle kommen kleinere Objekte, namentlich dünne Membranen im Dunkeln in eine 1 %ige Lösung von Aurum chloratum flavum auf mindestens zwei Stunden, dann ohne Auswaschen in eine 1 %ige Lösung von Ameisensäure (spez. Gew. 1,223),

Digitized by Google

worauf sie sofort derart dem Lichte (für 6—8 Stunden) ausgesetzt werden, dafs sie von allen Seiten von Lichtstrahlen durchdrungen werden (die Ameisensäurelösung ist eventuell zu wechseln). Einschliefsen am besten direkt in Gummisyrup oder in konzentriertes Glycerin.

Bei Nachvergoldung fixiere man bei Wirbeltieren in Sublimat-Osmium (1 Vol. gesättigte Sublimatlösung in $^1/_2$% Kochsalzlösung + 1 Vol. 1%ige Osmiumsäurelösung) 24 Stunden, Waschen in oft erneuertem Wasser, alsdann in wässeriger Jodjodkaliumlösung (1% KJ und $^1/_2$% J) 12 Stunden. Weiter wie nach einfacher Sublimatfixierung. Schliefslich wird durch Chloroform mit Paraffin durchtränkt, geschnitten und mit Wasser aufgeklebt. Bis zum Durchtränken mit Paraffin wird im Dunkeln gearbeitet. Durch Chloroform-Alkohol werden die Schnitte in Wasser gebracht, wo sie mindestens 6 Stunden verweilen, oder man spült sie in Wasser ab, bringt sie auf eine Minute in eine 1%ige Ameisensäure, spült abermals in Wasser ab und kann sie dann weiter behandeln. Sie kommen zunächst für 24 Stunden in 1%ige Lösung von Goldchlorid, werden dann kurz in Wasser abgespült, in eine 1%ige Ameisensäurelösung gebracht und dem Lichte ausgesetzt. Hierzu benützt man Glastuben (s. § 179), in welchen der Objektträger schräg gestellt werden mufs, in der Weise, dafs die Schnitte nach unten stehen. Unerläfsliche Bedingung für das Gelingen des Verfahrens ist eine allseitige Belichtung der Schnitte »bei möglichst intensivem Lichte und möglichst geringer Temperatur«. Man spült sie dann wieder in Wasser ab und überträgt sie in herkömmlicher Weise in Canadabalsam, oder schliefst direkt in konzentriertes Glycerin oder Gummisyrup ein. — Dünne Membranen werden auf eigens hierzu gefertigten Rähmchen von Lindenholz ausgespannt und ebenso wie aufgeklebte Schnitte behandelt. Sind die Präparate gelungen, so erscheinen die Neurofibrillen dunkelviolett bis schwarz. Als besonders geeignetes Material werden bei Wirbeltieren die grofsen Ganglien des Rückenmarks von Lophius, des Kalbes etc., empfohlen.

Zum Zwecke der Darstellung der markhaltigen Fasern im Centralnervensystem verdanken wir Weigert eine Reihe von Methoden, von denen wir folgende erwähnen:

482. Die ursprüngliche Weigertsche Hämatoxylinmethode bestand in folgendem: Schnitte in Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit fixierter (nicht mit Wasser ausgewaschener) Präparate, die braun, aber nicht grün

Digitized by Google

sein dürfen (Celloidindurchtränkung), kommen in eine Hämatoxylinlösung:

1 g Hämatoxylin,
10 g Alkohol und
90 ccm Wasser

(vor dem Gebrauch mufs die Lösung einige Tage stehen bleiben) auf 3 Stunden im Thermostat, welcher auf ca. 30 bis 45° C. erwärmt ist; entsprechend länger (1—2 Tage) bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Die schwarz gewordenen Schnitte werden oberflächlich mit destilliertem Wasser abgespült und in

Borax . . . . . 2 g
Ferridcyankalium . $2^1/_2$ g und
Wasser . . . . . 100 g übertragen.

In dieser Flüssigkeit vollzieht sich die gewünschte Differenzierung, und zwar in der Weise, dafs die graue Substanz gelb wird und die weifse dunkel bleibt. Unter Umständen erreicht man diese Differenzierung erst nach Stunden. Sämtliche Markscheiden erscheinen alsdann schwarz, die übrigen Elemente gelb bis bräunlich.

483. Ferner erwähnen wir folgende von Weigert angegebene Methode: Die (Fixierung wie in § 482) mit Celloidin durchtränkten und auf Kork resp. Holz befestigten Stücke (siehe § 87 und 88) kommen in eine neutrale essigsaure Kupferoxydlösung (eine gesättigte Lösung des Salzes wird mit gleichem Volumen Wasser verdünnt) in einen Thermostat bei 40° C. auf ein- bis zweimal 24 Stunden; die Stücke sehen nun dunkelgrün aus und der Celloidinmantel hellgrün. Nach dieser Prozedur können die Schnitte in 80 %igem Spiritus bis zum Schneiden aufbewahrt werden. Sind die Schnitte angefertigt, so kommen sie in folgende Hämatoxylinlösung (Weigertsches Hämatoxylin):

1 g Hämatoxylin
10 ccm absoluter Alkohol
90 ccm Wasser und
1 ccm gesättigtes Lithium carbonicum in Wasser.

Vor dem Gebrauche wird der Farbe Essigsäure (einen Tropfen auf ein Uhrschälchen) zugesetzt.

In dieser Flüssigkeit verbleiben die Schnitte je nach dem Objekt 2—24 Stunden (bei schwer sich färbenden Objekten auch im Thermostat bei 40° C.) und kommen dann in die Differenzierungsflüssigkeit, welche dieselbe wie bei der eben erwähnten Weigertschen Hämatoxylinmethode geblieben ist, d. h.

2 g Borax
$2^1/_2$ g Ferridcyankalium auf
100 ccm Wasser.

Der Prozefs der Differenzierung dauert lange, mitunter Tage, und darf nicht eher unterbrochen werden, bis die weifse Substanz dunkel und die graue hell geworden ist.

Digitized by Google

484. Eine weitere Methode Weigerts (91) ist die folgende:

Die (Fixierung wie in § 482) mit Celloidin durchtränkten und auf Kork resp. Holz befestigten Stücke (siehe § 87 und 88) kommen auf 24 Stunden in den Brütofen, auf folgender Lösung schwimmend:

Cupr. acet. neutrale (kalt gesättigte wässerige Lösung) Tartarus natronatus = Seignettesalz (10%ige wässerige Lösung)	zu gleichen Teilen.

Gröfsere Stücke (z. B. Pons Varoli des Menschen) können länger darauf bleiben, (höchstens) 48 Stunden, mit Erneuerung der Lösung nach 24 Stunden. (Hohe Temperatur zu vermeiden; Brüchigkeit.) Sodann noch einmal 24 Stunden im Brütofen schwimmend auf — wässeriger Lösung von Cupr. acet. neutrale. Die Lösung (kalt gesättigt) kann mit Wasser (dest.) $^1/_2$ verdünnt sein oder nicht. — Dann flüchtiges Abspülen der Stücke mit dest. Wasser. — 80% Spirit. Schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde sind die Stücke schneidbar, können aber auch beliebig lange darin bleiben. — Färbung der Schnitte:

A	Lithion carb. gesätt. wässerige Lösung	7 ccm
	aqua dest.	93 »
B	Hämatox.	1 g
	Alkohol	10 ccm.

Beide Lösungen kann man vorrätig halten, doch lasse man die Lithionlösung nicht zu alt werden. — Sie werden vor dem Gebrauche unmittelbar gemischt: A 9 Teile + B 1 Teil (nicht zu wenig Flüssigkeit!).

Nach 4—5 Stunden bei Zimmertemperatur sind die Schnitte vollkommen gefärbt, doch kann man sie auch 24 Stunden in der Farbe lassen. — Abspülen im Wasser. (Ohne Differenzierung (wie sie § 483 angiebt) kann man nur lose Schnitte färben, keine Celloidinserien, und die Schnitte dürfen nicht dicker sein als $^1/_{40}$ mm.)

Dann kommen die Schnitte in 90% Alkohol, dann entweder auf kurze Zeit in Karbolxylol oder besser in Anilinölxylol: Anilinöl 2 + Xylol 1. Dann Xylol und schliefslich Xylolbalsam (in Chloroformbalsam bleicht die Farbe ab). — Nach Anilinölxylol mufs sorgfältig in reinem Xylol gewaschen werden, sonst bleichen die Schnitte ebenfalls.

Resultat: Markhaltige Fasern dunkelblau bis schwarz auf hellem Grunde. Dieser färbt sich bald hellrosa. Das Randcelloidin wird manchmal hellblau.

Digitized by Google

Will man auch diese Färbung des Randcelloidins entfernen, so nimmt man statt des zweiten Auswaschwassers eine $^1/_5$ bis $^1/_2$%ige Essigsäure. (Dann Wasser, Alkohol.) Bei zarten Präparaten (z. B. Grofshirnrinde) ist die Essigsäurebehandlung zu vermeiden.

485. Die **Palsche** (86) **Methode** (die Färbung ist sehr präcis, aber nicht so intensiv wie bei der Weigertschen Methode, und deshalb ist sie namentlich für dicke Schnitte zu empfehlen) ist nichts anderes als eine modifizierte Weigertsche. Die Fixierung ist wie bei der eben erwähnten Methode; die Schnitte kommen entweder gleich in Hämatoxylin oder, wenn sie nicht genügend braun sind, den Stich ins Grüne zeigen, auf einige Stunden in $^1/_2$%ige Chromsäure resp. in eine 2- bis 3%ige Kalium bichromicum-Lösung. Es werden nun die Schnitte in eine der folgenden Hämatoxylinlösungen übertragen, entweder Weigertsches Hämatoxylin (siehe § 483) oder

0,75 g Hämatoxylin
10 g Alkohol
90 ccm Wasser, unter Erwärmen lösen und
2 ccm einer gesättigten wässerigen Lithium carbonicum-Lösung hinzufügen. Nach mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur überträgt man die Schnitte in $^1/_4$%ige wässerige Kalium hypermanganicum-Lösung, die frisch bereitet werden mufs, auf 20—30 Sekunden, und darauf in

Oxalsäure	1
Kalium sulfurosum	1 und
Wasser	200,

in welcher Flüssigkeit sich die Differenzierung vollzieht, in der Weise, dafs makroskopisch die graue Substanz farblos und die weifse dunkel erscheint; sämtliche Markscheiden sind alsdann dunkelblau, alles übrige farblos. Ein Nachfärben mit anderen Farben, wie z. B. mit Eosin, Alaunkarmin u. s. w., ist nicht ausgeschlossen.

Auch folgender Weg führt zum Ziele:

Die Schnitte werden mit Erlickischer Flüssigkeit 1—2 Stunden bei einer Temperatur von 40—50° behandelt, sie bleiben nach einem ganz oberflächlichen Abspülen mit Wasser in

Hämatoxylin	1 g
Alkohol abs.	10 g und
Wasser	90 ccm

ebenfalls 2—3 Stunden bei der eben angegebenen Temperatur; dann werden sie mit unterchlorigsaurem

Digitized by Google

Natron (einige Tropfen einer Lösung mit 2%igem Chlorgehalt auf eine Uhrschale mit Wasser) behandelt, in welcher Flüssigkeit sich direkt die Differenzierung unter den Augen des Beobachters in kurzer Zeit vollzieht, in der Weise, dafs die Markscheiden gefärbt bleiben und alles übrige entfärbt wird. Auch verdünnte Aqua Javelli kann als differenzierende Flüssigkeit analog angewandt werden.

Hat man nach irgend einer der citierten Methoden die Differenzierung der grauen und weifsen Masse erlangt, so werden die Schnitte sorgfältig mit destilliertem Wasser abgespült, entwässert und eingeschlossen.

Die letzt vorgetragene Methode hat Heilmeyer für die Darstellung der Gallenkapillaren in der Leber vorgeschlagen.

486. Wie Weigert (95 und 94) nachgewiesen hat, ist seine Färbung auch nach Fixation nicht nur in Müllerscher, Marchischer Flüssigkeit, sondern auch in Formol möglich. Die Prozedur ist dann die folgende:

Einbetten in Celloidin.

Schneiden (nicht kupfern!).

Chromsäure 1%; erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen, vorher gut ausbreiten.

Abspülen in Wasser.

Färbung in Weigertschem Hämatoxylin unter Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.

Wasser. — Differenzierung nach Pal. Wasser, dem einige Tropfen Ammoniak (wenn braun) oder Lithion (wenn blau) zugesetzt sind. — Einschliefsen.

Dieses Vorgehen ist ein viel kürzeres als das früher von Weigert angegebene.

487. Noch einfacher scheint folgende Markmethode, welche durch Kultschitzky (90) angegeben wurde, zu sein:

Objekte aus Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit werden mit Celloidin durchtränkt, geschnitten und die Schnitte in die Hämatoxylinlösung übertragen.

1 g Hämatoxylin wird in ein paar ccm Alkohol vollkommen gelöst und zu 100 ccm einer 20%igen wässerigen Borsäurelösung hinzugefügt. Diese Hämatoxylinlösung wird vor dem Gebrauch mit 2—3 Tropfen Essigsäure auf ein Uhrschälchen angesäuert. Oder noch einfacher:

Man löse 1 g Hämatoxylin in ein paar ccm Alkohol und füge hinzu 100 ccm einer 2%igen wässerigen Essigsäurelösung.

Es erscheinen nach 24 Stunden sämtliche Markscheiden dunkelblau, alles übrige fast ungefärbt mit einem Stich ins

Digitized by Google

Rötliche. Das nachträgliche Behandeln mit der Weigertschen Differenzierungsflüssigkeit (§ 483) führt jedoch sicherer zum Ziele.

488. Nach Kultschitzky (87b) und Wolters (90) geben wir folgende Methode zur Mark- und Axencylinderfärbung an:

a) Kultschitzky: In 50 %igen Alkohol bringt man ad libitum feingestofsenes doppeltchromsaures Kalium und schwefelsaures Kupferoxyd. Nach 24 Stunden löst sich ein Teil dieser Salze in absoluter Dunkelheit auf. Vor dem Gebrauch wird diese Flüssigkeit mit Essigsäure, 5—6 Tropfen auf 100 ccm, angesäuert. — Je nach der Gröfse werden die Objekte 12 bis 24 Stunden im Dunkeln fixiert und dann in starken Alkohol übertragen. Nach abermals 12—24 Stunden können dieselben geschnitten werden.

b) Wolters: Die mit der Kultschitzkyschen Flüssigkeit fixierten Stücke werden in Celloidin möglichst dünn geschnitten (5—10 μ) und dann auf 24 Stunden in folgende Beize übertragen:

10 %iges Vanadium chloratum . . . . 2 Teile
8 %iges Aluminium aceticum liquidum . 8 »

Nach kurzem (10 Minuten) Abwaschen mit Wasser kommen die Schnitte in die Hämatoxylinlösung von Kultschitzky:

Hämatoxylin 2,0 (alkoholische Lösung)
2 %ige Essigsäure —100
eventuell ein paar Tropfen Osmiumsäure (Kaes 91)

auf 24 Stunden (bei 30°) und werden dann in 80 %igem salzsäurehaltigem Alkohol entfärbt, bis die Schnitte einen hellen blauroten Ton zeigen. Übung beim Entfärben ist erforderlich.

489. Azoulay (94) empfiehlt für die Färbung der Markscheide namentlich im Centralnervensystem folgende Methode: Man fixiere die Stücke in Müllerscher Flüssigkeit, wasche 1—2 Tage in Wasser aus, durchtränke mit Celloidin und schneide. Möglichst dünne Schnitte werden kurze Zeit mit Wasser gewaschen und in eine 1—2 ‰ige Osmiumsäure auf 5—15 Minuten übertragen, dann abermals mit Wasser kurz gewaschen. Nun kommen die Schnitte in eine 5—10 %ige Tanninlösung und werden auf 50—55° C. ca. 5 Minuten (2—5) erwärmt, wobei die gewünschte Färbung aufzutreten pflegt. Man wasche jetzt ordentlich mit Wasser aus, färbe eventuell mit Karmin oder Eosin nach und überführe die Schnitte durch Alkohol, Xylol in Canadabalsam. Sind die Schnitte zu dick geraten, so wende man nach der Tanninbehandlung die Palsche Flüssigkeit (hypermangansaures Kalium 0,25 %ig, Waschen mit Wasser, schwefelsaures Kalium 1 %ig + Oxalsäure 1 %ig zu gleichen Teilen [vor dem Gebrauch zu mischen]) oder auch aq. Javelli 1 auf 50 Wasser an und fahre wie oben weiter fort. — Die Zeitdauer der Entfärbung mit Palscher Flüssigkeit oder aq. Javelli ist nicht anzugeben, vielmehr mufs mit dem Mikroskop kontrolliert werden.

Digitized by Google

Sind die Stücke in einem osmiumhaltigen Gemisch (Flemmingsche Lösung, Osmiumbichromat von R. y Cajal, Marchische Flüssigkeit etc.) gewesen, so überträgt man die Schnitte aus dem Wasser in 5—10 %ige Tanninlösung und verfährt im übrigen wie oben.

Auf dieselbe Weise kann man Fett in beliebigen Organen färben.

490. Flechsig (76) hat darauf aufmerksam gemacht, dafs bei Embryonen, Föten und jungen Tieren Nervenbahnen nicht gleichzeitig markhaltig werden, und darauf eine Methode für das Studium des Faserverlaufs im Centralnervensystem gegründet.

491. Um Bindegewebszellen der centralen Nervenorgane an in Alkohol fixierten Objekten sichtbar zu machen, sind die folgenden Methoden zu berücksichtigen: man fixiere Rückenmark- resp. Gehirnstücke in 96—98 %igem Alkohol; die Fixierung dauert je nach der Gröfse des Stückes verschieden lange; für 1 cm grofse Stücke genügen schon zwei Tage. Mit Celloidin durchtränkte Schnitte von nicht über 20 μ Dicke kommen aus dem Spiritus auf $^1/_2$—1 Minute in eine 0,1 %ige Methylenblaulösung in Wasser. Darauf wird der Schnitt in absolutem Alkohol (in zwei Schalen hintereinander) kurze Zeit (Minuten) gewaschen und in Origanumöl, worin die Differenzierung stattfinden soll, übertragen. Die Nervenzellen erscheinen intensiver gefärbt wie die Bindegewebszellen (grünlich). — Färbt man, wie oben angegeben, die Schnitte $^1/_2$ Minute mit Methylenblau, wäscht mit Alkohol und überträgt in eine schwache Magenta-(Diamant-Fuchsin)-Lösung (0,1 Magenta, 100 ccm von 96 %igem Spiritus) auf $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, und wäscht darauf 1 Minute in Alkohol wieder und überträgt auf kurze Zeit in Nelkenöl und aus diesem in Canadabalsam, so erscheinen die Nervenzellen blaurötlich mit ungefärbten Kernen und blauen Kernkörperchen, die Kerne des Bindegewebes und der Gefäfse sind rot. Vor dem Einschliefsen betrachte man die gefärbten Schnitte mit schwacher Vergröfserung in Nelkenöl und sehe zu, ob die Färbung gelungen ist. Ist zu viel Rot oder zu viel Blau, so kann man die Färbung korrigieren, indem man im ersteren Falle mit Nelkenöl, im zweiten mit Origanumöl auszieht: Nelkenöl löst nämlich Fuchsin, Origanumöl Methylenblau, nicht aber umgekehrt (Nifsl-Rehm, siehe Rehm, 92).

492. Um in in Alkohol fixierten Präparaten Axencylinder und Nervenzellen darzustellen, empfiehlt Rehm folgende Methode:

Schnitte kommen auf 2 mal 24 Stunden in $^1/_2$ %ige wässerige Hämatoxylinlösung und werden dann mit Wasser, dem auf 100 ccm 1 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung Lithion carbonicum zugesetzt ist, gewaschen, bis kein Farbstoff mehr

Digitized by Google

ausgezogen wird; weitere Behandlung: Alkohol etc. Die Axencylinder sind grauschwarz, die protoplasmatischen Fortsätze ebenfalls.

493. Färbemethode nach Marchi (85):

1. Müllersche Flüssigkeit 8 Tage. 2. Möglichst kleine Stücke kommen ohne Auswaschen in: Müllersche Flüssigkeit 2 + Osmiumsäure 1%ig 1 Teil 5—8 Tage. 3. Auswaschen (einige Tage). 4. Celloidin etc.

Die degenerierenden (nicht die degenerierten) Fasern werden schwarz, alles andere leicht gelb.

494. Da bei der Marchischen Färbung bloſs kleine Gehirnstücke sich gut färben, weil sonst schwarze Schollen an solchen Stellen sich ablagern, die nicht degeneriert sind, empfiehlt Teljatnik (97) zur Beseitigung dieser der Methode anhaftenden Mängel folgende Modifikation: Es werden die $1^1/_2$ cm dicken Stücke vom Nervensystem in eine Müllersche Lösung eingelegt, dann gelangen sie in Chromosmiumlösungen, deren Konzentration allmählich gesteigert wird; zuletzt werden die Präparate mit hypermangansauerem Kalium und mit Oxalsäure behandelt (wie in der Palschen Methode); bei dieser Behandlung verschwinden diejenigen schwarzen Schollen, die keine Degenerationsprodukte sind.

495. Weigerts (95) Neurogliafärbung:

1. Fixierung (und Beizung).

Diese beiden Prozeduren kann man getrennt oder vereint vornehmen. Man trennt sie, wenn man die Präparate auch nach anderen Methoden, z. B. der Marchischen, Golgi-, Nifsl- oder Markscheiden-Methode, behandeln will. In diesem Fall Fixation mit Formol 1 : 10. Stücke nicht über einen halben Centimeter dick! Material möglichst frisch. Grofse Schalen mit Flieſspapier belegt. Die Flüssigkeit ist nach dem 1. Tage zu wechseln, etwa 4 Tage genügen zur Fixierung. Die so fixierten Stücke können jahrelang ohne Nachteil für die Neurogliafärbung aufbewahrt werden.

2. Beizung (siehe Merkel-Bonnet, Ergebnisse. 1894). Besonders zu empfehlen ist:

5% essigsaures Kupferoxyd
5% gewöhnliche Essigsäure
$2^1/_2$% Chromalaun in Wasser.

Hierbei ist zu beachten: der Chromalaun wird zuerst in Wasser gekocht, dann werden die beiden anderen Komponenten zugesetzt, und zwar zuerst die Essigsäure und dann

Digitized by Google

das feingepulverte neutrale essigsaure Kupferoxyd. Man rührt gehörig um und läfst erkalten.

In diese Lösung, welche auch für Markscheidenfärbung zu empfehlen ist, kommen die in Formol fixierten Stücke auf 4—5 Tage bei Brutofentemperatur oder bei Zimmertemperatur etwa 8 Tage. Will man nur die Neuroglia gefärbt erhalten, so ist es besser, die frischen, nicht über $^1/_2$ cm dicken Stücke mit Umgehung des einfachen Formols direkt in jene Kupferchromalaunlösung zu bringen, der man dann 10 % Formol zusetzen mufs. Wechseln der Flüssigkeit!

Zum Schneiden werden die Stücke mit Wasser abgespült, in Alkohol entwässert und mit Celloidin durchtränkt.

Die Schnitte kommen auf etwa 10 Minuten in eine $^1/_3$ %ige Lösung von Kalium hypermanganicum, dann Auswaschen durch Aufgiefsen von Wasser, dann Verbringen der Schnitte in die Reduktionsflüssigkeit (5 % Chromogen und 5 % Ameisensäure [spez. Gewicht 1,20] in Wasser). Man filtriert sorgfältig. Vor dem Gebrauch setzt man zu 90 ccm dieser Flüssigkeit 10 ccm einer 10 %igen Lösung von Natriumsulfit (einfach schwefligsaures Natron). Schon nach wenigen Minuten sind die durch Kalium hyperm. gebräunten Schnitte entfärbt, aber man läfst sie zweckmäfsiger noch 2—4 Stunden in der Lösung. Will man das Bindegewebe farblos, so kann man jetzt die Vorbereitungen für die Färbung abschliefsen; wenn nicht, und man will das Bindegewebe tingiert und das nervöse in der Kontrastfarbe, so bringe man die Schnitte nach dem Abgiefsen der Reduktionsflüssigkeit und nach zweimaligem Aufgiefsen von Wasser in eine einfache, gesättigte, wässerige Chromogenlösung (5 % Chromogen in Aqua destillata). Man filtriere sorgfältig! In dieser Lösung bleiben die Schnitte über Nacht, je länger, desto intensiver die Kontrastfärbung des Nervensystems, dann giefst man wieder zweimal Wasser auf, und nun sind die Schnitte fertig zur Färbung.

3. Färbung; diese ist eine modifizierte Fibrinfärbung, s. § 310. Die Jodjodkaliumlösung ist unverändert (gesättigte Lösung von Jod in 5 %iger Jodkaliumlösung).

Statt der üblichen Gentianaviolettlösung benützt man eine heifsgesättigte und nach dem Erkalten von dem Bodensatz abgegossene alkoholische Lösung (70—80 % Alkohol) von Methylviolett. Dieser Lösung setzt man auf je 100 ccm 5 ccm einer 5 %igen wässerigen Oxalsäurelösung zu. Die

Digitized by Google

Anilinölxylollösung ist nicht im Verhältnis von 2 Anilinöl : 1 Xylol, sondern 1 : 1. Im übrigen ist die Färbung wie bei der Fibrinmethode, die Reaktionen gehen äufserst rasch vor sich. Schnittdicke nicht über 20 μ.

Weitere Literatur für Kapitel 8: Dejerine (95), Lenhossék (95), Obersteiner (96), Pollack (98) Weigert (94 und 95).

9. Kapitel.

Herz, Blutgefäfse und deren Verteilung, Lymphgefäfse und Saftkanäle.

496. Um die Anordnung und die gegenseitige Lage der verschiedenen Gewebsteile, welche die Herzwand zusammensetzen, kennen zu lernen, ist es nötig, Schnitte durch die Herzwand anzufertigen, die man in beliebiger Weise (Müllersche Lösung, Chromsäure, Alkohol etc.) fixiert und weiter behandelt hat. Für die Isolation von Zellen der Purkinjeschen Fäden, glatten und Herzmuskelzellen verfahre man nach § 408 ff.

497. Das Endo- und Perikard können (siehe § 265) versilbert, mit der Pincette abgezogen (oder durch Flächenschnitt mit dem Rasiermesser als dünne Lamelle abgetragen) und in Glycerin eingeschlossen werden.

498. Gröfste und grofse Gefäfse fixiere man beliebig und schneide sie in Celloidin. Färbung für elastische Fasern mit der Orceïnmethode (siehe § 327) und der Weigertschen Methode (siehe § 326), für Bindegewebe nach Hansen (s. § 322).

499. Die Media dieser Gefäfse wird mit Kali- (Natron-) lauge, $^1/_3$ Alkohol (24 Stunden und länger) oder einer 1 %igen Weinsäure einige Stunden behandelt; es lassen sich nach dieser Vorbehandlung **elastische** Elemente — **Platten, Netze und Fasern** durch sorgfältiges Spalten und Zupfen stellenweise isolieren.

500. Mittlere Arterien und Venen werden geschnitten und mit Pikrokarmin (siehe § 214) z. B. tingiert (Muscularis).

501. Kleine und kleinste Gefäfse (ohne vasa vasorum mit einer dünnen [aus einer Reihe Muskelelemente bestehenden] Muskulatur, in der Arterie zirkulär und der Vene der Länge nach verlaufend) studiert man sehr bequem an Zupfpräparaten der weifsen resp. grauen Substanz des Centralnervensystems, wo sie als willkommene Nebenbefunde

Digitized by Google

erscheinen. Dieselben, aber auch die kleinsten der mittleren studiere man an Schnitten durch verschiedene Organe, vornehmlich an denen der Lunge, die in der Nähe des Hilus derselben gewonnen wurden.

502. Man kann die Kapillaren und allenfalls kleine Arterien und Venen an etwas nachgedunkelten versilberten (siehe § 265) dünnen Lamellen, die mit Hämatoxylin nachgefärbt worden sind, untersuchen.

Noch bessere und sicherere Resultate für die Untersuchung derselben Objekte erhält man, wenn man einem durch Chloroform getöteten Frosch z. B., den man durch Abschneiden der Herzspitze verbluten liefs, eine dünne (1—5 ‰ige) Silbernitratlösung in die Gefäfse einspritzt, bis das ganze Gefäfssystem gefüllt ist (Frosch 10—15 ccm). Von so vorbehandelten Fröschen können Mesenterien, Lungenalveolen, Harnblase entnommen, abgespült, mit Alkohol fixiert und eingeschlossen werden; solche Präparate zeigen aufser den Endothelgrenzen die Grenzen der glatten Muskeln.

503. Nicht injizierte Kapillaren kollabieren in dem Mafse, dafs man sie als solche nicht mehr in Schnitten alle erkennen kann. Um die Verbreitung derselben zur Anschauung zu bringen, injiziert man die Gefäfse.

Die Injektionstechnik ist zu einem besondern umfangreichen Zweige der mikroskopischen Technik herangewachsen. Wir sehen von der Schilderung der Injektionsapparate, Technik des Einführens und Befestigens der Kanüle etc. ab und begnügen uns mit der Angabe zweier wohlerprobter Injektionsmassen: einer roten und einer blauen.

504. Es ist dies zunächst die Gelatine-Karminlösung. Sie wird folgendermafsen hergestellt: Man bereite sich einen Karminbrei (etwa 4 g Karmin und 8 ccm Wasser). Zu diesem Karminbrei giefse man so viel Ammoniak hinzu, wie nötig ist, um den Karmin in Lösung zu bringen, was daran zu erkennen ist, dafs das Ganze lackfarben wird. Anderseits lege man etwa 50 g Gelatine in destilliertes Wasser und lasse sie darin etwa 24 Stunden aufquellen. Ist die Gelatine aufgequollen, so erwärme man dieselbe, nachdem man das Wasser mit den Händen ausgeprefst hat, auf dem Wasserbade auf etwa 60° C. und sorge dafür, dafs die Gelatine nicht überwärmt werde; ist sie geschmolzen, so füge man unter beständigem Umrühren so viel von dem

Digitized by Google

Karminbrei hinzu, als nötig ist, um eine bestimmte Farbenintensität zu erzielen. Man mische sorgfältig mit einem Glasstabe, bis sich der Karmin gleichmäfsig in der Gelatinemasse verteilt hat. Nun tröpfle man in diese Lösung eine etwa 25 %ige Essigsäurelösung unter beständigem Umrühren hinzu, bis die dunkel-kirschrote Lackfarbe in eine ziegelrote überzugehen anfängt. Ist das der Fall, so ist die Masse neutral, und man filtriere sie durch Flanell.

Die Masse wird in warmem Zustande einem vorher auf 37—38° C. in warmem Wasser gewärmten, durch Massieren vor Einbinden der Kanüle möglichst blutleer gemachten Tiere injiziert (bei Amphibien genügen schon ca. 30° C.). Die so injizierten Stücke werden in Spiritus fixiert.

Will man ganze Tiere injizieren, so empfiehlt es sich, die Kanüle der Spritze durch das linke Herz in die Aorta einzuführen und so einzubinden, dafs ein Ausflufs der zurückfliefsenden Masse durch das rechte Herz möglich ist. Man injiziere langsam unter geringem Druck.

505. Das im Wasser lösliche **Berlinerblau**, Ranvier (89), in einer im Wasser gesättigten Lösung zu der wie in § 504 hergestellten Gelatine in der Wärme hinzugesetzt, liefert eine blaue Injektionsmasse. Hat man kein lösliches Berlinerblau, so kann man es sich in folgender Weise beschaffen (nach Ranvier): Man giefse gelbes Blutlaugensalz und Ferrosulfat in bestimmten Proportionen zusammen, es bildet sich ein blauer Niederschlag von unlöslichem Berlinerblau. Man filtriere die Flüssigkeit, und die blaue pulverige Masse bleibt auf dem Filter. Nun wasche man die auf dem Filter gebliebene Masse mit Wasser, bis das Filtrat blau gefärbt erscheint. (Es dauert unter Umständen 24 Stunden und länger.) Das unlösliche Berlinerblau ist nun löslich geworden, und die auf dem Filter gebliebene breiige Masse kann getrocknet und als lösliches Berlinerblau benutzt werden.

Die mit Berlinerblau injizierten Stücke lassen ein nachheriges Fixieren mit Chromsäure, chromsauren Salzen etc. zu.

Fertige Injektionsmassen sind durch Grübler und Co. zu beziehen.

506. Es ist vor Jahren von Altmann (79) ein Verfahren vorgeschlagen worden, das in folgendem besteht:

Man injiziert Gefäfse (z. B. der Niere, Iris, Chorioidea, Retina, Haut) mit Olivenöl; so injizierte Organe werden

Digitized by Google

mit Osmiumsäure (siehe § 38) behandelt, wobei sich die injizierten Gefäfse schwarz färben. Die nicht durchsichtigen massigen Organe können auf einem Gefriermikrotom in dünne Scheiben zerlegt werden, worauf sie ebenfalls in Osmiumsäure (1% auf 24 Stunden) kommen. Es werden dabei die mit Öl gefüllten Gefäfse schwarz. Diese mit Osmiumsäure fixierten schwarzen Ölstränge (Gefäfse) sind so widerstandsfähig geworden, dafs man allerdings mit grofser Vorsicht solche Schnitte auf dem Objektträger mit aqua Javelli behandeln kann, wobei sämtliche Gewebsteile gelöst werden. Auf diese Weise ist man im stande, mikroskopische Korrosionspräparate der kleinsten Gefäfse und Kapillaren zu erhalten.

Solche Präparate können auch durch Wasser in Glycerin oder durch Alkohol in Canadabalsam übergeführt werden. Diese Prozedur erfordert aber eine besondere Sorgfalt, da die korrodierten Präparate ungemein brüchig werden.

507. Eine andere Methode, die sogenannte Fettimprägnation der Lymphwege, ist ebenfalls von Altmann angegeben. Man bereite zu diesem Zweck entweder;

1.	Olivenöl	1 Volumen
	Alkohol abs.	1/2 »
	Schwefeläther	1/2 »

das Ganze mufs klar aussehen, oder

2.	Ricinusöl	2 Volumina
	Alkohol abs.	1 Volumen.

Man lege frische Gewebsstücke, z. B. Hornhaut, in nicht zu wenig Mischung von 1 oder 2. Nach 5—8 Tagen kommen die betreffenden Stückchen aus dem Gemisch 1 oder 2 direkt auf einige Stunden in Wasser, wobei die äufserlich anhaftenden Fettteilchen abgespült und die in den Kanälen enthaltenen niedergeschlagen werden. Es kommen die Gewebsstücke auf 24 Stunden in eine 1%ige Osmiumsäure und können, wie bei den Gefäfsen, entweder direkt mit aqua Javelli korrodiert werden, oder, wenn nötig, erst nachdem sie auf einem Gefriermikrotom geschnitten worden sind.

Will man die Korrosion möglichst sorgfältig machen und auf längere Zeit ausdehnen, so kann man aqua Javelli mit 1 oder 2 Volumen Wasser verdünnen.

508. Um Lymphkapillaren resp. Lymphspalten zu injizieren, wird die Methode der Injektion durch Einstich angewandt, die entweder mit Berlinerblau (siehe § 505) geübt wird, oder mit wässeriger Silbernitratlösung 1 : 1000 oder aber mit Silbernitrat, gelöst in Gelatine (1/4 auf 100) (Ranvier, 89). Man lege Gelatine auf 12 Stunden in eine reichliche Wassermenge, presse dann dieselbe mit den Händen möglichst gut aus und verflüssige dieselbe durch Erwärmen, dann erfolgt der Silbernitratzusatz.

Digitized by Google

10. Kapitel.

Lymphdrüsen und Milz.

509. Für die grobe Orientierung über den Bau der Lymphdrüsen genügen Schnitte durch kleinere Drüsen, die dem Mesenterium einer Katze etwa entnommen und mit Alkohol, Flemmingscher Flüssigkeit, Sublimat, Pikrinsäure fixiert worden sind.

An Schnitten, die mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt worden sind, kann man sich bequem über die Verbreitung der Mark- und Rindensubstanz orientieren, die Trabekel und die Kapsel erscheinen in der Eosinfarbe; für Bindegewebe färbe man nach Hansen (s. § 322).

Um das Endothel der Trabekel zur Darstellung zu bringen, spritze man von einem vas afferens aus oder einfacher durch Einstich in die Lymphdrüse eine schwache $^1/_{10}$ %ige Silbernitratlösung ein. Nach einer halben Stunde wird die Drüse in Alkohol fixiert. Schnitte, die nicht unter 15 μ dünn sein dürfen, zeigen die bekannte Endothelzeichnung auf den Trabekeln.

510. Für das Studium der Keimcentren Flemmings empfehlen sich neben den Lymphdrüsen selbst die solitären Knötchen des Darmes; sie werden vorher mit Flemmingscher Lösung, aber auch mit Pikrinsäure etc. fixiert und mit Safranin gefärbt.

511. Das retikulierte, adenoide Gewebe ist an intakten Schnittpräparaten nur wenig oder gar nicht wahrzunehmen, an sehr dünnen Schnitten (1—3 μ) ist dasselbe aber gut zu sehen. An dickeren Schnitten kommt es erst dann zu Gesicht, wenn man die Zellen auf irgend eine Weise entfernt.

Schnitte durch Lymphdrüsen, die entweder frisch oder mittels eines Gefriermikrotoms angefertigt worden sind, werden auf einem Objektträger mit wenig Flüssigkeit ausgebreitet und mit einem feinen Malerpinsel betupft; die Leukocyten bleiben am Pinsel zum Teil hängen, und man kann das Präparat nachträglich etwa mit Hämatoxylin färben, wobei sich die adenoiden Netze blau tingieren. Pinselmethode. (His, 61.)

Aber auch an zuvor fixierten Präparaten, die geschnitten worden sind und einige Zeit im Wasser gelegen haben, kann man das Pinseln sowohl, wie die nächstfolgende Methode üben; sie ist ebenfalls von His angegeben und besteht darin, daſs man Schnitte in einem zur

Digitized by Google

Hälfte mit Wasser gefüllten Probiergläschen einige Zeit schüttelt. Setzten wir zum Wasser Froschgalle zu, so schien es uns, als ob wir in kürzerer Zeit bessere Resultate erzielten; es ist nicht unmöglich, dafs ein Teil der in den Maschen des Retikulums gelegenen Elemente sich in der Galle löst. Bei dieser Prozedur werden die meisten Leukocyten entfernt, und wenn man nun die Schnitte ausbreitet und färbt, so sieht man deutlich das retikuläre Bindegewebe.

512. Auch durch Verdauen der Schnitte mit Trypsin kann man das retikuläre Bindegewebe darstellen (s. § 331 ff).

513. Retikuliertes Gewebe (nicht leimgebend) kommt nach Mall (91) in Lymphdrüsen, Milz, Schleimhäuten, Leber, Niere, Lunge vor und wird dargestellt, indem man in Pankreatin verdaute Schnitte mit Wasser ausschüttelt, auf einem Objektglas ausbreitet und eintrocknen läfst. Dann wird dasselbe mit einem Tropfen der Lösung befeuchtet: Pikrinsäure 10 g, absoluter Alkohol 150 ccm, Wasser 300 ccm. Dies läfst man wiederum eintrocknen, worauf man den Schnitt mit einigen Tropfen Säurefuchsin bedeckt und etwa eine halbe Stunde stehen läfst. (Säurefuchsin 10 g, absoluter Alkohol 33 ccm, Wasser 66 ccm.) Das überschüssige Fuchsin wird dann abgegossen, der Objektträger für sehr kurze Zeit in die Pikrinsäurelösung gebracht und dann in absoluten Alkohol übertragen. Xylol, Canadabalsam (ist im wesentlichen Altmanns Granulamethode, siehe § 251).

514. Bilder, welche sich zum Teil von denen unterscheiden, welche die eben beschriebene Methode liefert, erhält man bei Anwendung der in § 572 beschriebenen Silbermethode auf in Alkohol fixierte Stücke von Milz und Lymphdrüse. Vor Anwendung der Methode schneide man von den Stücken die Kapsel weg. In der Milz färben sich Fasern in der Pulpa, Fasern im Malpighischen Körperchen und eine besondere auch die Gefäfse überkleidende Rindenschicht des Malpighischen Körperchens (Oppel, 91).

515. Für die Untersuchung der Zellen würde man die verschiedenen Färbungen anzuwenden haben, die bei der Untersuchung der Lymphe (siehe § 273 ff.) verwandt werden, auf Schnitte, oder indem man durch Abschaben einer frischen Schnittfläche sich Material verschafft, welches man ganz in der Weise, wie es bei der Lymphe gesagt worden ist, behandelt.

Digitized by Google

516. Die Methode der Untersuchung der Milz ist ganz dieselbe wie die der Lymphdrüsen. Elastische (?) Fasern der venösen Kapillaren färbe man mit Orceïn (siehe § 327) oder nach Weigert (siehe § 326), besser mit Bleu de Lyon, Bindegewebsfibrillen nach Hansen (s. § 322).

Die Injektion der Milzgefäfse gehört zu den schwierigsten Problemen der Injektionstechnik.

517. Zum Nachweis von Eisen in Schnitten der Milz (auch anderer Organe) empfiehlt sich die Berlinerblaureaktion (nach dem Verfahren von Wicklein, 89). Am besten nicht aufgeklebte Schnitte in Alkohol fixierter Präparate werden mittels Glashäckchen in ein 25 ccm 1 %iger Salzsäure enthaltendes Glasschälchen gebracht, unmittelbar darauf mittels einer Pipette 3 Tropfen einer frisch zubereiteten kalt gesättigten wässerigen Lösung von Ferrocyankalium hinzugesetzt, es wird umgerührt und 5 Minuten gewartet. Dann kommen die Schnitte in reichliche Mengen mehrfach zu erneuernden destillierten Wassers (etwa 1/4 Stunde) und werden event. mit Alaunkarmin nachgefärbt und in Canadabalsam eingeschlossen. In solchen Schnitten ist alles eisenoxydhaltige Pigment gebläut.

11. Kapitel.

Darm und Drüsen.

518. Die **Mundhöhlenschleimhaut** wird in der gewöhnlichen Weise fixiert, also z. B. mit Alkohol, Chromsäure, Flemmingscher Lösung, und bietet an mit Karmin u. s. w. gefärbten Präparaten ganz instruktive Orientierungsbilder.

Fafst man Spezielles ins Auge, will man beispielsweise das Epithel oder die Drüsen u. s. w. eingehender untersuchen, so würde man dementsprechend die Methoden zu modifizieren haben.

519. Die Papilla circumvallata und foliata (seltener fungiformis) sind Träger von **Geschmacksknospen**, welche aus Stütz- und Sinneszellen zusammengesetzt sind; diese werden bei weitem am besten mit der Flemmingschen Lösung fixiert. Müllersche Lösung und Chromsäure liefern unbrauchbare Bilder.

Dünne Schnitte, die entweder längs durch die Knospe oder quer durch dieselbe (sehr genaue Orientierung erforderlich) geführt worden sind, werden entweder mit R. Heidenhainscher Hämatoxylinlösung oder mit Safranin-Gentianaviolett (siehe § 622) gefärbt.

Digitized by Google

520. Will man die Nerven bis zu den Schmeckbechern resp. den Epithelien verfolgen, so bedient man sich der Golgischen Methode (siehe § 467 ff.), der vitalen Methylenblaufärbung (siehe § 477 ff.), oder man verfährt in folgender Weise:

Eine Papilla foliata eines Kaninchens wird mit einem Rasiermesser flach abgeschnitten, in vorher filtrierten Citronensaft auf 10 Minuten eingelegt und auf 40 bis 60 Minuten in Goldchlorid übertragen. Überträgt man nun die Papille in ein schwach mit Essigsäure angesäuertes Wasser, so vollzieht sich die Reduktion im Lichte (Ranvier), und es kann das Objekt mit Alkohol nachbehandelt und dann senkrecht auf die Leisten der Papille geschnitten werden. Nachdem die Schnitte eine kurze Zeit mit Ameisensäure, worin sie etwas quellen, behandelt worden sind, wird das Präparat in Glycerin eingeschlossen.

521. Ösophagus. Für Übersichtsbilder wähle man den Ösophagus kleinerer Tiere. Von gröfseren Säugern mufs man entweder die Schleimhaut abpräparieren und diese allein schneiden oder mit Celloidin durchtränken, da sich Schnitte z. B. durch ein Stück des ganzen Ösophagus des Menschen in Paraffin nur schwer herstellen lassen.

522. Für alle **Drüsen** achte man darauf, dafs man es hier nicht mit in gleichem Zustande bleibenden Gebilden zu thun hat. Die Drüsenzelle bietet ein ganz anderes Bild, wenn sie secerniert oder einige Zeit secerniert hat, als in der Ruhe.

Die Drüsenzellen ändern sich fortwährend. Man wird daher einzelne Stadien derselben herauszugreifen und besonders zu untersuchen haben, z. B. für Magen im 1., 2. und 3. Verdauungsstadium (siehe physiologische Handbücher), und die verschiedenen Bilder vergleichend studieren.

Geeignetes Material verschafft man sich, indem man Tiere zunächst hungern läfst, dann füttert und nach bestimmten Zeiten tötet. Hierzu eignen sich am besten Hunde. Kaninchen oder Mäuse mit leerem Magen zu bekommen, ist schwieriger. Frösche kann man künstlich vermittelst eines kleinen Glastrichters z. B. mit defibriniertem Blut füttern.

Die verschiedenen Stadien kann man auch erzeugen, indem man bestimmte Reize einwirken läfst, z. B. Nervenreizung und gewisse Gifte.

523. Von praktischer Bedeutung für die histologische Untersuchung sind in erster Linie Pilokarpin und Atropin, da bei

Digitized by Google

Atropin-Intoxikation die Sekretion unterdrückt, bei Pilokarpin befördert wird; auf diese Weise bekommt man geladene und erschöpfte Drüsenzellen. Die beiden Gifte werden in folgenden Dosen beim Kaninchen pro Kilo Tier angewendet: Pilokarp. hydrochlor. 1 ccm einer 5%igen Lösung; Atropin. sulf. 1 ccm einer 0,5%igen Lösung.

524. Für **Magen und Darm** dienen die gewöhnlichen Fixierungsmethoden, vor allem Sublimat. Stets lege man einige Kontrollstücke in Alkohol ein. Man nehme möglichst frische Objekte, bei welchen noch keine Selbstverdauung stattgefunden hat. Man fixiere kürzere Stücke ganz oder schneide den Darm auf. Abwaschen mit Wasser kann schaden.

Will man gröfsere Darmstücke in toto fixieren, so fülle man den Darm mittels einer geeigneten Spritze, die man in das eine Ende einbindet, mit Fixierungsflüssigkeit, z. B. Sublimat (Glasspritze), nachdem man das andere Ende zugebunden hat; ist er mäfsig gefüllt, so binde man vor der Spritze auch zu und lege den Darm in eine reichliche Menge derselben Fixierungsflüssigkeit. Beim Auswässern werden die beiden unterbundenen Enden abgeschnitten.

Übersichtsbilder über die Verteilung der Drüsenregionen des Magens (auch unter Erhaltung des Oberflächenepithels) bekommt man am besten mit Sublimat (Glasspritze). Will man Längsschnitte durch den ganzen Magen (man wähle anfangs kleine Tiere) anfertigen, so empfiehlt es sich, in den fixierten Magen Fenster einzuschneiden, um das Eindringen der Durchtränkungsflüssigkeiten zu erleichtern.

525. Für spezielle Untersuchung der Mucosa empfiehlt es sich, dieselbe mit einem scharfen Messer abzupräparieren und dann mit Nadeln auf einer Korkplatte auszuspannen. Die Korkplatte läfst man auf der Fixierungsflüssigkeit mit der Präparatseite nach unten schwimmen.

526. Magen-Drüsenzellen. Besonders für Sublimatschnitte ist die Doppelfärbung Hämatoxylin-Eosin geeignet. Eosin färbt bei niederen Vertebraten die gekörnten Drüsengrundzellen, während die Halszellen hell bleiben; bei Säugern färbt es die Belegzellen. Überhaupt scheinen die sauren Aniline die Belegzellen zu färben, und es können dabei die roten mit Hämatoxylin und die blauen mit Karmin kombiniert werden.

Digitized by Google

527. Korbförmige Sekretkapillaren werden an den Belegzellen durch die Golgische Methode dargestellt (E. Müller, 92). Zimmermann (98) fixiert dieselben mit Kochsalz. In physiologische Kochsalzlösung 100 zu Alkohol 96 %ig 200 kommen die Schnitte für 10—15 Minuten (häufig umrühren), das Chromsilber geht in Chlorsilber über, die Schnitte bleiben dann in 75—96 %igem Alkohol einen halben Tag im Licht stehen. Nachfärben mit Hämatoxylin und Eosin oder Säurefuchsin.

528. Mineralsäuren (Salpeter-, Schwefel-, Salzsäure 0,5—5 %) trüben und machen schrumpfen sowohl die Beleg- als die Hauptzellen (Salpetersäure von weniger wie 0,5 % bringt die Belegzellen zum Aufquellen, ebenso Essigsäure von 0,5—5 %) mit steigender Konzentration in immer höherem Grade. Spült man die Säure aber mit Wasser ab, so hellen sich die Belegzellen unter Quellen auf, die Hauptzellen bleiben trüb und scheinen noch weiter zu schrumpfen. (R. Heidenhain, 70).

529. Hämatoxylin-Kongorot. Schnitte der in Alkohol oder Sublimat fixierten Fundusschleimhaut werden 1 bis $1^1/_2$ Minuten in Böhmersches Hämatoxylin gebracht, einige Sekunden in 1 ‰ige wässerige Salzsäure, sodann mehrere Minuten in Wasser, oder wenn man eine stärkere Blaufärbung der Kerne und der Hauptzellen beabsichtigt, direkt in Wasser abgespült. Darauf kommen sie für 2—5 Minuten in eine verdünnte (im Uhrschälchen sattrot, aber gut durchsichtige) wässerige Lösung von Kongorot, aus dieser so lange in Wasser oder verdünnten Alkohol, bis das zunächst überfärbte Präparat genügend ausgezogen erscheint. Absoluter Alkohol zieht den Farbstoff sehr langsam aus. Belegzellen erscheinen dann rot und die Hauptzellen bläulich.

Auch die eosinophilen Zellen können mit Kongorot dargestellt werden (Stinzing, 99).

530. Magen- und Darmepithelien können mittels der in § 257 ff. angeführten **Isolationsmethoden** untersucht werden; besonders eignet sich hierfür die 1 ‰ige Osmiumsäure.

Das Ausfliefsen der auch bei Anwendung vieler Fixierungsflüssigkeiten leicht ausfliefsenden Oberenden der Magenepithelien kann man durch Fixierung mit Sublimat verhüten. Für Darmepithelien dagegen empfehlen sich Osmiumsäuregemische, speziell die Flemmingsche Lösung.

531. Bilder über die **Fettresorption** erhält man an mit Flemmingscher Lösung behandelten Darmstücken, doch beachte man § 336.

532. Ewalds Isolationsmethode (siehe § 263 f.) eignet sich sehr gut für Demonstration des Fettes in den Darmepithelien nach Fettfütterung (Kaninchen).

Digitized by Google

533. Bei Untersuchung der Fettresorption ist zu beachten, dafs das Fett, wie durch die Fütterungsversuche Biedermanns (98) mit alkannisiertem Fett nachgewiesen ist, vor seiner Aufnahme in die Cylinderepithelien in seine Konstituentien (in Wasser lösliche Verbindungen) zerlegt wird. — Man mufs daran denken, dafs die Darmepithelzelle den gröfseren Teil des Fettes in derselben Form weitergibt, in welcher sie ihn aufgenommen hat. Es hätten dann die in den Darmepithelzellen und in fast allen Geweben des Darmes nachweisbaren Fetttröpfchen, die zweifellos gleichfalls aus den resorbierten Spaltungsprodukten des Fettes entstanden sind, doch eine ganz andere, dem eigentlichen Wesen der Fettresorption mehr fernstehende Bedeutung.

534. **Zotten** können **frisch** untersucht werden in indifferenten Lösungen (s. § 10 ff.); namentlich eignen sich die Zotten von Mäusen und Ziegen hierfür.

Bei allen Fixierungsmethoden hat man mit Kontraktion der Zotten zu rechnen, welche zur Ablösung des Epithels und ähnlichen Artefakten führen kann. Verhältnismäfsig gute Resultate erzielt man mit Osmiumsäure.

535. Das **Mucin** in Schleimdrüsen und Becherzellen des Darmes verschiedener Tiere wird durch die basischen Teerfarbstoffe (im Sinne Ehrlichs, s. § 204) mehr weniger intensiv gefärbt, z. B. durch Methylenblau und Thionin (vergl. Hoyer, 90).

Farblösungen zur sicheren Schleimfärbung verdanken wir Paul Mayer (96):

536. Mucikarmin. Karmin 1 g, Chloraluminium 0,5 g, dest. Wasser 2 ccm über kleiner Flamme etwa 2 Minuten lang erhitzen, bis das Gemisch ganz dunkel geworden. Dazu 100 ccm Alkohol von 50 %. Diese Stammlösung ausnahmsweise entweder direkt oder nach Verdünnung auf $^1/_5$—$^1/_{10}$ mit Alkohol von 50 oder 70 % gebrauchen, in der Regel aber mit (destilliertem oder) gewöhnlichem Wasser auf $^1/_{10}$ zu Mucikarmin (Gehalt an Karmin $^1/_{1000}$) verdünnen, das in den Schnitten oder dünnen Membranen nur den Schleim färben soll (eventuell zur Nachfärbung nach Hämalaun).

537. Muchämateïn. Hämateïn 0,2 g, zu zerreiben mit einigen Tropfen Glycerin, dazu Chloraluminium 0,1 g, Glycerin 40 ccm, dest. Wasser 60 ccm. — Spirituöse Lösung: Hämateïn 0,2 g, Chloraluminium 0,1 g, Alkohol (von 70 %) 100 ccm, Salpetersäure 1—2 Tropfen. Beide

Digitized by Google

Lösungen zur Färbung des Schleimes in Schnitten oder dünnen Membranen.

538. Das Mucin löst sich in verdünnten Alkalien, z. B. in Kalkwasser, und kann aus diesen Lösungen mit Essigsäure gefällt werden. Der Niederschlag löst sich im Überschufs der Essigsäure nicht. Durch Alkohol wird Mucin gefällt, beim Kochen nicht. Mucinogen färbt sich nicht mit Hämatoxylin, wohl aber das Mucin selbst. Man kann durch diese Methode eine thätige und eine ruhende Drüse unterscheiden. R. Heidenhain (80).

539. Bei der Untersuchung des Schleimes haben wir im Auge zu behalten, dafs diejenigen Mucine, welche man bisher rein darzustellen vermochte (Mucin der Submaxillardrüse vom Rind, Mucin der Sehnenscheiden und des Nabelstranges, sowie die Mucine der Weinbergschnecke), zwar die wesentlichsten Eigenschaften gemein haben, jedoch durch Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse voneinander abweichen.

540. Stützgewebe des Darmrohres: Zum Studium der Verteilung der elastischen Fasern dient die Orceïnfärbung (siehe § 327) und das Weigertsche Verfahren (siehe § 326), für die Anordnung der Bindegewebsfibrillen die Hansensche Färbung (siehe § 322).

541. Bei Stückfärbung mit Boraxkarmin mit folgender Schnittfärbung in wässeriger 2 ‰iger Lösung von Indulin 4 Stunden werden nach Maas (99) im Darm (Myxine) Kerne rot, Plasmazellen und Muscularis rosa, Bindegewebe tiefblau. — Ferner erzielt Maas (99) durch Stückfärbung in etwa 2 %iger (scherryroter) Lösung von Kongorot 2—3 Stunden, Ausspülen und schnell durch schwächeren Alkohol zu Alkoh. abs. mit folgender Schnittfärbung in stark verdünntem (durchsichtigem) Böhmerschem Hämatoxylin 5—10 Minuten Differenzierung des Bindegewebes.

542. Zum Studium des Darmstützgewebes empfiehlt Maas (99) bei Trypsinverdauung, dem Pankreasextrakt (vom Schwein) Kongorot zuzusetzen, so dafs mit dem Ende des Versuches das unverdaute Bindegewebe bereits gefärbt vorliegt. Verdaut man statt bei gewöhnlicher Temperatur in der Wärme (bei 37—42 °), so sind im Gegenteil nach 2 Stunden alle bindegewebigen Bestandteile gelöst, alle zelligen noch erhalten (nach 4—5 Stunden werden auch diese gelöst). Man hat also nach Maas (99) im Pankreassaft nicht nur ein Mittel, Bindegewebe von den zelligen Elementen getrennt zu erhalten, sondern auch diese isoliert vom Bindegewebe darzustellen (fixiertes Material).

543. Material für **Untersuchung der Noduli** (siehe auch § 510 ff.). Besonders geeignet sind Peyersche Noduli, welche makroskopisch gesucht, ausgeschnitten und z. B. mit

Digitized by Google

Flemmingscher Lösung behandelt werden. Dünndarm, Caecum vom Meerschwein, Kaninchen; Processus vermiformis vom Menschen enthält eine kontinuierliche Reihe von Noduli.

So behandelte Noduli können geschnitten und gefärbt werden, wobei man Beziehungen zwischen den basalen Enden des Epithels und dem darunter liegenden Gewebe sieht (namentlich in Canadabalsampräparaten).

544. **Drüsen** können an geeigneten Objekten **frisch** untersucht werden, z. B. Schleimdrüsen an der Nickhaut des Frosches, (s. auch § 551).

545. Zur Fixierung kleiner Stücke von Speicheldrüsen verwende man Flemmingsche Lösung oder auch Sublimat.

546. Solger (96) empfiehlt für Untersuchung frischer Drüsen Gefrierschnitte, (nach dem Vorgang von Kölliker) ohne Zusatzflüssigkeit zu untersuchen; Umrandung des Deckgläschens verhütet Verdunstung. Die hier sichtbaren Sekretgranula seröser Drüsen erhalten sich nach Fixierung in 10%iger Formalinlösung (3 Tage), (auch in Sublimat und Altmanns Osmiumbichromatgemisch).

547. Zur Darstellung der **Sekretkapillaren** seröser Drüsenzellen und der Giannuzzischen Halbmonde dient die rasche Golgische Methode (siehe § 469) und die M. Heidenhains Eisenhämatoxylinfärbung (siehe § 200), letztere mit nachfolgender oder vorausgehender Rubinfärbung. Auch Ehrlich-Biondis Triacidgemisch (siehe § 231) führt zum Ziel.

Zur Färbung der **Giannuzzischen Halbmonde** empfehlen sich Doppelfärbungen von mit Alkohol, Sublimat etc. fixierten Stücken, z. B. Hämatoxylin- und Eosinfärbung, wobei die Halbmonde blau erscheinen.

548. Die Zellen der Schaltstücke v. Ebners färben sich mit Karmin und mit Hämatoxylin intensiver wie die übrigen der Drüse.

549. Die Strichelung der basalen Teile der Epithelien der **Speichelröhren** in Speicheldrüsen sieht man am besten an mit Osmiumsäure und mit Osmiumsäuregemischen behandelten ungefärbten und in Glycerin eingeschlossenen Präparaten, in Canadabalsam auch an gefärbten Präparaten weniger deutlich.

Das gestrichelte Epithel der Speichelröhren färbt sich mit Hämatoxylin-Kongorot (§ 529) rotbraun.

550. An der Mehrzahl der Speicheldrüsen (nicht an der Parotis des Kaninchens oder Sublingualis vom Hund z. B.) lassen sich durch Schütteln (um den Zutritt der Luft zu

Digitized by Google

begünstigen) kleiner Stücke derselben mit Pyrogallussäure die Speichelröhren dunkelbraun färben (Kalk-Reaktion); die Farbe hält sich in Alkohol (Merkel, 83).

551. Frische Pankreasstückchen, in physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig ausgebreitet, lassen die Körnchen der Innenzone erkennen (Kühne und Lea, 74).

552. Um die **Innen- und Aufsenzone der Pankreasdrüsenzellen** durch Färbung darzustellen, gibt es zwei Wege, entweder färbt man die Innenzone oder die Aufsenzone.

Zur Färbung der Aufsenzone hat R. Heidenhain (80) vorgeschlagen, in Alkohol fixierte Stücke mit ammoniakalischem Karmin oder mit Hämatoxylin zu färben (Boraxkarmin gibt ebenfalls gute Resultate).

Zur Färbung der Körnchen der Innenzone empfehlen sich für Sublimatpräparate Methylgrün-Eosin-Mischung (s. § 228) oder Methylgrün-Fuchsin-S.-Mischung (s. § 229) oder das Ehrlich-Biondische Triacidgemisch (s. § 231).

Die Körnchen werden dann rot, während die Aufsenzone hell bleibt. Material: besonders geeignet sind Amphibien (Salamander), weniger geeignet Säugetiere, besser im Hungerzustand.

Bei Behandlung mit Flemmingscher Lösung, Färbung mit Safranin und Auswaschen mit Pikrinsäure, färben sich die Körnchen der Innenzone rot.

553. Mit der Golgischen Methode (s. § 470) lassen sich auch Sekretions- und Ausführungswege verschiedener Drüsen, z. B. Magendrüsen, Pankreas und Speicheldrüsen, zur Darstellung bringen.

554. Auerbachscher und Meifsnerscher Plexus. Beide lassen sich an aufgespannten Darmstücken mit der Goldmethode (s. § 434) darstellen. Aber auch in Alkohol fixierte aufgespannte Darmstücke, die mit schwachen Hämatoxylinlösungen, z. B. der Ehrlichschen (siehe § 195), gefärbt werden, zeigen mitunter in blauer Farbe die genannten Plexus. (Auch ältere Methoden, Holzessig, verdünnte Essigsäure, führen zum Ziele.)

12. Kapitel.

Leber.

555. Bei der Wahl des Materials für **Übersichtsbilder** wähle man zunächst die leicht zu erlangende Schweinsleber. Diese zeigt annähernd kugelige Läppchen, die durch sehr viel interlobuläres Bindegewebe voneinander geschieden

Digitized by Google

sind. Die Leber des Menschen (Rind, Kaninchen, Meerschweinchen etc.) zeigt keineswegs so gut abgegrenzte Läppchen, diese konfluieren sehr oft miteinander zu doppelten, ja zu dreifachen Läppchen, die dann gemeinsam vom interlobulären Bindegewebe umgeben werden, welches unter Umständen sehr schwach entwickelt ist.

Das Besehen der Leber von Embryonen und Föten bietet insofern ein Interesse, als man dabei erfährt, dafs die Gliederung in Läppchen noch weniger ausgeprägt ist.

556. Die Wahl der Methoden richtet sich danach, ob man die Leberzellen, die Blutgefäfse, die Gallenkapillaren oder das Bindegewebe der Leber im Auge hat. Instruktive Übersichtsbilder liefern fast alle für allgemeine Zwecke gebräuchlichen Fixierungsmethoden. Hämatoxylinfärbungen liefern die instruktivsten Bilder. Mit Osmiumsäure und Flemmingscher Chrom-Essig-Osmiumsäure erzielt man in den Leberzellen (Frosch) die Differenzierung in Proto- und Paraplasma Kupffers.

557. Die **Blutgefäfse** der Leber werden gewöhnlich von der Pfortader aus injiziert (siehe § 503 ff.), doch ist dies auch von der Arterie aus möglich.

558. Auch die **Gallenwege** kann man vermittelst der Injektionsmethode zur Darstellung bringen, am besten mit in Wasser löslichem Berlinerblau, und zwar mit einer konzentrierten Lösung. Man injiziert entweder vom ductus hepaticus oder vom ductus choledochus aus. Die Injektionsmasse gerät im letzteren Falle zunächst in die Gallenblase und erst, nachdem diese prall gefüllt ist, verbreitet sie sich durch den ductus hepaticus in die Leber. Es wird auf diese Weise ein zu hoher Druck unmöglich, da die Gallenblase die Regulierung des Druckes übernimmt. Die Resultate dieser Injektion sind gar zu oft nicht befriedigende. Man hat mit Extravasaten zu kämpfen, und im günstigsten Falle sind an ganz beschränkten Stellen der Leber kleine Distrikte des Läppchens, gewöhnlich die der Peripherie, injiziert.

559. Die Gallenkapillaren wurden durch Färbung nach dem in § 485 angegebenen Verfahren (Heilmeyer) dargestellt.

560. Eine andere historisch ältere ist die sog. Methode der **physiologischen Selbstinjektion**, von Chrzonszczewsky (64 und 66) angegeben. Man injiziert in die vena jugularis ext. eine gesättigte wässerige Lösung des Indigokarmins (Hund auf einmal je 50 ccm, Katze 30 ccm, erwachsenes

Digitized by Google

Kaninchen 20 ccm) dreimal im Laufe von $1^1/_2$ Stunden. Nach Verlauf dieser Zeit tötet man das Tier und fixiert kleinere Leberstücke mit absolutem Alkohol, Chlorkalium, oder indem man die Blutgefäfse der Tiere mit einer gesättigten wässerigen Chlorkaliumlösung von der Pfortader aus ausspritzt. Man kann auch nachträglich die Gefäfse mit Karminleim injizieren und mit Alkohol härten; man bekommt alsdann mit Indigokarmin natürlich injizierte Gallenkapillaren und mit Karminleim injizierte Blutgefäfse neben einander.

Schneidet man die so fixierte Leber, so findet man die Gallenkapillaren, falls die Zeit des Abtötens gut getroffen wurde, gefüllt mit Indigokarmin, welcher aus den Blut- und Lymphbahnen durch die Leberzellen in diese ausgeschieden worden ist.

561. Beim Frosch läfst sich das Ganze noch einfacher machen: Man injiziert in den Lymphsack des Frosches etwa 2 ccm einer wässerigen Indigokarminlösung; nach ein paar Stunden wird das Tier getötet und die Leber, wie eben angegeben, fixiert und weiter behandelt.

562. Darstellung der **Gallenkapillaren mit dichromsaurem Silber.** (Böhm A., siehe Kupffer, 89.) Frische Leberstücke, die nicht mehr wie 1 ccm grofs sein dürfen, werden auf 3 mal 24 Stunden in folgende von Ramon y Cajal für andere Zwecke angegebene Flüssigkeit übertragen: 3 %ige Lösung von Kalium bichromicum 4 Volumina, 1 %ige Überosmiumsäure-Lösung 1 Volumen. Hieraus auf 24—48 Stunden in eine $^3/_4$ %ige wässerige Silbernitrat-Lösung. Die Stücke werden alsdann mit destilliertem Wasser gewaschen, in Alkohol kurz nachgehärtet und geschnitten, Die Gallenkapillaren erscheinen deutlich markiert.

563. Ein Stück Leber eines eben getöteten Tieres wird mit Kalium bichromicum in von 2 auf 5 % rasch ansteigender Lösung fixiert. Nach drei Wochen bringe man das Stück in eine $^3/_4$ %ige Lösung von Argentum nitricum. Nach wenigen Tagen, nach acht Tagen sehr ausgebreitet, färben sich die Gallenkapillaren (Oppel 90).

564. Braus (96) imprägniert die Gallenkapillaren mit Argentum nitricum nach Anwendung von Mischungen von $^1/_3$ %iger Chromsäurelösung und Formol oder Gemisch von Müllerscher Flüssigkeit und Formol (75 Volumprozent Chromlösung und 25 Volumprozent 40 %iger wässeriger Formaldehydlösung, besonders für fettreiche Leber). Oft kann ein

Digitized by Google

Erfolg durch wiederholtes Überführen der Stückchen von Chromlösung in Silber noch nach Wochen erzielt werden. Vergl. auch das von Kopsch (96) angegebene Verfahren in § 472 (Kaliumbichromat-Formol).

565. Die Färbung der Gallenkapillaren ist nach der M. Heidenhainschen Eisenhämatoxylin-Methode (siehe § 200), sowie mit dem Ehrlich-Biondischen Triacidgemisch (siehe § 231) möglich. Vergl. darüber R. Krause (93), E. Müller (95).

566. F. Behrens (98) empfiehlt zur Darstellung der Gallenkapillaren: Formolschnitte werden mit Merkelscher Beize (Chromalaun 2,5 Teile in 100 Teilen Wasser gekocht, dazu 5 Teile Eisessig und 5 Teile Kupferacetat) 4 bis 5 Tage gebeizt, dann mit Kaliumpermanganat oxydiert und mit Natriumsulfit und Ameisensäure reduziert, mit Wasser abgespült und in Methylviolett gefärbt. — Der Inhalt der Gallenkapillaren wird durch Formalin für Wasser und Alkohol schwer löslich gemacht. So bleiben die Gallenkapillaren mit ihrem Inhalt voll erhalten.

567. Darstellung des Bindegewebes der Leber nach Kupffer (76).

Aus der frischen Leber mittelst des Doppelmessers angefertigte Schnitte werden in 0,6 %iger Kochsalzlösung abgespült oder aber, und das empfiehlt sich mehr, eine Viertelstunde lang mit verdünnter Chromsäurelösung (0,05 %) behandelt, hierauf in eine stark verdünnte Goldchloridlösung nach Gerlachs Vorschrift

(1 Teil Goldchlorid
1 Teil Salzsäure und
10000 Teile Wasser)

übertragen und verbleiben in der Lösung, unter Ausschluſs des Lichtes, bis sie sich rot oder rotviolett gefärbt haben. Ist diese Färbung in 48 oder mehr Stunden erreicht, so sind die Schnitte unmittelbar zur Beobachtung zu verwenden.

Starke Lösungen des Goldsalzes von $^1/_4$ bis $^1/_2$ % und dementsprechend kürzere Behandlung der Schnitte mit der Lösung sind für den vorliegenden Zweck nicht geeignet. Das vorgängige Abspülen der Schnitte mit verdünnter Chromsäure ist keineswegs conditio sine qua non des Gelingens, trägt aber wesentlich dazu bei. Zur Untersuchung bringt man die Schnitte in mit Salzsäure angesäuertem Glycerin auf den Objektträger.

568. Diese Methode, für welche man die Schnitte auch vermittelst des Gefriermikrotoms entnehmen kann (P. Rothe), führt unter Umständen auch zur Darstellung der Sternzellen Kupffers.

Digitized by Google

569. Bruchstücke des Bindegewebes der Leber kommen auch dann zum Vorschein, wenn man frische Leberstücke, die nicht über 1 ccm grofs sein dürfen, auf 2—3 mal 24 Stunden in $^1/_2$ %ige Chromsäurelösung und dann auf 1—2 Tage in eine $^1/_2$ %ige Silbernitratlösung verbringt. Die Stücke können, nachdem sie einige Minuten in destilliertem Wasser abgespült worden sind, mit Alkohol gehärtet und geschnitten werden. Das intralobuläre Bindegewebe erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz auf farblosem Grunde (Böhm A., siehe Kupffer, 89).

570. Neue Methode von Kupffer (99) für Sternzellen:

Ein Teil Goldchlorid und ein Teil Formol (= 0,4 Formaldehyd, Formol mufs frisch bereitet sein) wurden in 10000 Teilen destillierten Wassers gelöst. Mit dem Doppelmesser hergestellte Leberschnitte wurden zunächst auf 10 Minuten in eine ganz schwache Chromsäurelösung 1:10000 gesetzt, darauf in jene Lösung übertragen; in flachen Glasgefäfsen, in welchen die Lösung etwa 3 cm hoch steht, wurden die Leberschnitte in einfacher Schicht ausgebreitet. Nach 36 Stunden oder später tritt in der Regel die Färbung ein, wobei die Sternzellen schwarz erscheinen. Die Schnitte können durch Alkohol und Toluol in Canadabalsam überführt werden, sie dunkeln aber in der Regel nach. Fetthaltige Lebern dürfen nicht verwendet werden, da die Fetttropfen sich ebenfalls schwärzen. Diese Methode ist viel sicherer als die in § 568 angegebene.

571. Spritzt man einem Kaninchen Tusche, etwa $^1/_5$ g, fein verrieben in physiologischer Kochsalzlösung 10 ccm in die Blutbahn (Vena jugularis) ein und tötet das Tier nach 24 bis 36 Stunden, fixiert die Leber in beliebiger Weise und schneidet, so findet man die Sternzellen mit Tusche gefüllt. Ähnliches erzielt man, wenn man Tusche in den Lymphsack des Frosches, die Bauchhöhle einer Maus einspritzt. Zinnober statt Tusche zu nehmen, ist weniger zu empfehlen (v. Kupffer, 99).

572. Darstellung des intralobulären Bindegewebes nach Oppel, 90 und 91, (sicherer als die Methode von § 569): In Alkohol fixierte grofse Stücke der Leber werden auf 24 Stunden in eine 5 %ige wässerige Lösung von Kalium chromicum flavum gebracht. Man spüle sie dann mit einer sehr dünnen Höllensteinlösung (einige Tropfen einer $^3/_4$ %igen Lösung auf 30 ccm destillierten Wassers) ab und lege sie in eine $^3/_4$ %ige Lösung von Argentum nitricum. Nach 24 Stunden haben sich in der Leber intralobuläre Fasernetze (Gitterfasern) gefärbt, welche die Blutkapillaren umspinnen. Die Stücke kommen einige Stunden in

Digitized by Google

destilliertes Wasser, dann in Alkohol. Paraffin-Durchtränkung ist zulässig, doch schneidet man besser mit freier Hand. Auch verhältnismäfsig dicke Schnitte (30—40 μ) sind brauchbar für das Studium der Gitterfasern. — Stets sind nur die Randpartien des Stückes gefärbt; die Schnitte sind daher parallel zu einer Seite nahe der Oberfläche des Stückes zu entnehmen.

573. Die bei der Lymphdrüse erwähnte Pinsel- resp. Schüttelmethode der Schnitte führt zur Darstellung des interlobulären Bindegewebes und eines Teils des intralobulären. Siehe auch die Mallsche Methode § 513.

574. Um das Glykogen der Leber zu studieren, verfährt Ranvier folgendermafsen: Es wird ein Hund 2 Tage lang mit gekochten Kartoffeln gefüttert, die durch Zusatz von Fett schmackhafter gemacht werden, danach getötet, und kleine Leberstücke mit einem Gefriermikrotom in Schnitte zerlegt. Die Schnitte werden in Jodserum (siehe § 13) gebracht und darin untersucht. Man findet zunächst das Glykogen in der Leberzelle in diffuser Form; es ballt sich aber später zu unregelmäfsigen Massen. Noch später tritt Glykogen auch an der Oberfläche der Leberzellen auf. Solche Schnitte, welche die Glykogenjodreaktion (weinrote Farbe desselben) zeigen, kann man mit Osmiumdämpfen räuchern und so 24 bis 48 Stunden lang fixieren. Später verschwindet die weinrote Farbe gänzlich.

575. Zur Darstellung der Nerven in der Leber empfiehlt Berkley (93) folgende Methode: $^1/_2$—1 mm breite Streifen des frischen Organs kommen in zur Hälfte mit heifsem Wasser verdünnte gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Wasser auf 15—30 Minuten und dann in eine Lösung von Kalium bichromicum und 2 %iger Osmiumsäure (100:16) im Dunkeln bei 25° C. auf 48 Stunden. (Diese Lösung mufs man vor dem Gebrauche einige Tage in der Sonne stehen lassen.) Die Objekte werden dann mit einer $^1/_4$—$^3/_4$ %igen wässerigen Silbernitratlösung 5 bis 6 Tage behandelt, gewaschen, geschnitten (rasche Celloidindurchtränkung nicht ausgeschlossen). Bergamottöl, Xylol-Canadabalsam.

13. Kapitel.

Atmungsorgane. Thyreoidea und Thymus.

576. **Kehlkopf und Trachea** kleinerer Tiere, die nicht alt sein dürfen, werden am besten in der Flemmingschen Flüssigkeit fixiert, aber auch andere Fixierungsmittel, wie z. B. Sublimat, Chromsäure und auch Alkohol geben, ganz befriedigende Bilder.

Digitized by Google

Die Knorpel des Kehlkopfes, auch der Trachea älterer Tiere sind häufig verkalkt, daher schwer im Ganzen zu schneiden. Bei solchen präpariere man die Schleimhaut nach dem Fixieren sorgfältig ab, durchtränke und schneide diese allein. Oder aber man durchtränke zunächst den Kehlkopf ganz mit (weichem) Paraffin und schneide dann mit einem Messer die harten Knorpelpartien ab; letzteres Verfahren gibt bessere Resultate. Gröfsere Kehlköpfe schneide man (wenn im Ganzen zu schneiden) in Celloidin.

Die mit der Flemmingschen Flüssigkeit (siehe § 43) vorbereiteten Stücke werden in Schnitte zerlegt und mit Safranin tingiert. Aufser der Kerntinktion des Safranins erhält man bräunlich tingierte Becherzellen und rotbraun tingierte elastische Netze des Stratum proprium der Mucosa und der Submucosa.

Nach Sublimat, Chromsäure und Alkohol kann man mit Erfolg die Stückfärbung mit Borax-Karmin anwenden.

577. Fafst man speziell das Studium der Drüsen ins Auge, so fixiere man sorgfältig z. B. mit Flemmingscher Lösung, isoliere die Schleimhaut durch Abschneiden mit dem Rasiermesser, durchtränke, schneide und färbe für spezielle Zwecke.

578. Selbstverständlich kann das Flimmer- und Pflaster-Epithel der Respirationswege im frischen Zustande sowohl, als auch maceriert (Vorzügliches leistet Ranvierscher $^1/_3$ Alkohol) beobachtet werden (siehe § 257 ff).

579. Die Wahl des Materials für die Untersuchung der **Lunge** mufs mit besonderer Sorgfalt getroffen werden, da man sehr oft pathologische Verhältnisse antrifft.

580. Um den Zusammenhang kleinster Bronchien des Alveolargangs mit dem Trichter zu sehen, fertige man Schnitte senkrecht auf die Oberfläche der Lunge an.

581. Um das sonst so schwer zu sehende **respiratorische Epithel** sichtbar zu machen, empfiehlt es sich, die Lunge mit Silbernitratlösung zu injizieren. Man verfahre dabei folgendermafsen (F. E. Schulze, 71 und Kölliker, 81): Man spritze eine 0,05 %ige Silbernitratlösung von der Trachea oder einem grofsen Bronchus aus in die Lunge ein, die man, ohne sie zu verletzen, dem Tiere entnommen hat. Ist so die Lunge mäfsig gefüllt, so binde man die Trachea an der Spitze der Kanüle ab, um das Zurückfliefsen der injizierten Flüssigkeit zu verhindern, und lege dann die so eingespritzte Lunge in eine $^1/_2$ %ige Lösung desselben Salzes. Nach einer Stunde etwa wird die Lunge

Digitized by Google

in Stücke zerschnitten und in Spiritus von etwa 80 % aufbewahrt. Man kann auch die ganze Lunge in Spiritus einlegen und erst später zerschneiden. Die mit Paraffin durchtränkten Lungenstückchen werden geschnitten (das Aufkleben der Schnitte mit Eiweifs ist zu vermeiden, wegen des späteren Nachdunkelns desselben). Solche dem Lichte ausgesetzte Schnitte zeigen nach einiger Zeit Silberlinien der Alveolarepithelien sowohl, als wie der Alveolargänge. Die Kernfärbung ist zulässig (Hämatoxylin oder Safranin).

582. **Elastische Fasern** der Lungenalveolen untersucht man an frischen, mit Kalilauge behandelten Präparaten (siehe § 325); aber auch mit $^1/_3$ Alkohol macerierte Lungenalveolen, die nachträglich auf dem Objektträger mit Pikrokarmin gefärbt werden können, liefern gute Bilder.

583. An Schnitten färbe man die elastischen Fasern (Kehlkopf, Trachea, Bronchen, Lunge) mit der Orceïnmethode (siehe § 327) und dem Weigertschen Verfahren (siehe § 326).

584. Die Blutgefäfse der Lunge lassen sich verhältnismäfsig leicht mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (s. § 503 ff.) injizieren, oder man kann bei Amphibien z. B. die mit Blut gefüllten Blutgefäfse in vivo beobachten (siehe Blutkreislauf § 312 ff.).

585. Man fixiere kleine Stückchen der **Schilddrüse** in der Flemmingschen Lösung (siehe § 43) 1—3 Stunden (sic), wasche 24 Stunden in oft zu wechselndem destilliertem Wasser aus und behandle mit allmählich verstärktem Alkohol (70 %, 90 %, 96 %). Man schneide und färbe entweder im Stück mit R. Heidenhainscher Hämatoxylinlösung (siehe § 199) oder und dies mit grofsem Erfolg, mit Ehrlich-Biondischer Lösung (siehe § 231) (Langendorff, 89).

Nach dieser Methode ist es diesem Autor gelungen, zweierlei Zellen der Alveolen zur Darstellung zu bringen: Haupt- und Kolloidzellen (siehe § 586) — helle mit grünen Kernen und rote mit grünen Kernen.

586. Die Kolloidsubstanz sieht homogen aus, trübt sich mit Alkohol und Chromsäure nicht, wird durch Essigsäure nicht geronnen im Gegensatz zu Schleim und färbt sich mit vielen Farbstoffen, z. B. mit Hämatoxylin.

Kolloid quillt in Essigsäure auf (Waschen in physiologischer Kochsalzlösung bringt die Masse auf das frühere Volumen zurück), weniger in $^1/_5$ %iger Salzsäure.

Digitized by Google

33 %ige Kalilauge oder starke Natronlauge läfst Kolloid weniger aufquellen, setzt man aber Wasser zu, so zerfällt Kolloid eher, als sich Bindegewebe löst. 10 %ige Kalilauge löst nach längerer Zeit Kolloid. Salpetersäure macht Kolloid etwas schrumpfen.

587. Die Technik der **Thymus** schliefst sich eng an die der Lymphdrüsen an. Als Material sind besonders fötale Thymusdrüsen zu beachten. Die Hassalschen Körperchen sind beim Meerschweinchen in jedem Alter zu sehen (Renaut, 99).

14. Kapitel.

Niere und Harnwege. Nebenniere.

588. Beliebig fixierte Nieren, mit Alkohol z. B., werden in einer passenden Richtung mikrotomiert oder mit der Hand geschnitten und geben instruktive Bilder über die Verbreitung der **Mark-** und **Rindensubstanz.**

589. Will man die **Blutgefäfse** der Niere spezieller ansehen, so untersucht man injizierte und fixierte Nieren. Die Injektion an kleineren Tieren wird von der Aorta descendens aus vollzogen, bei gröferen Tieren von der Arteria renalis aus. Die mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (siehe § 503 ff.) injizierten Nieren werden mit Spiritus fixiert und geschnitten; nicht gefärbte Schnitte, die in Canadabalsam aufgehellt sind, zeigen nur die Gefäfsbahnen. Färbt man aber solche Schnitte, so sieht man neben den Gefäfsbahnen die nicht besonders gut konservierten Harnkanälchen.

590. Um die **Harnkanälchen** zu isolieren, gebraucht man die reine Salzsäure von 1,12 spezifischem Gewicht und läfst diese 15 bis 20 Stunden (unter Umständen genügen auch 4—6 Stunden) auf kleine Stücke (etwa 0,5 cm Seite) einer nicht zu sehr frischen Niere (etwa 24 Stunden nach dem Tode) einwirken. Nach der angegebenen Frist werden die Stücke mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Objektträger gezupft und in verdünntem Glycerin untersucht (Schweigger-Seidel, 65). Das Glycerin mufs zu den isolierten Stücken sehr vorsichtig zugesetzt werden, damit dieselben durch Strömungen nicht verwickelt resp. gebrochen werden.

591. Mit gutem Erfolge haben wir für die Isolation der Harnkanälchen kleine frische Stücke der Niere in eine starke, bis auf 40 % verdünnte rauchende Salpetersäure auf 2 (bis 4)

Digitized by Google

Stunden eingelegt. Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen, und man kann unter Umständen durch bloſses Schütteln in einem Uhrschälchen sehr lange Abschnitte isolieren.

Ein sehr gutes Objekt für diese Methode scheint die Niere der Schildkröte (aber auch die der Maus) zu sein, denn wir haben vor Jahren in zahlreichen Fällen im Zusammenhange Ampulle, gewundenes Stück, Henlesche Schleife, Schaltstück, Sammelröhre bis zum Konfluieren mit der nächsten Sammelröhre gesehen. Sind die Präparate gut ausgewaschen, so empfiehlt sich das Nachfärben mit saurem Fuchsin, von welchem man einige Tropfen dem Wasser zusetzt, in welchem die macerierten Stücke gewaschen werden. Untersucht und eingeschlossen werden die gezupften Präparate in mit Wasser verdünntem Glycerin, welches vorsichtig an Stelle des Wassers substituiert wird.

592. Eine Methode, die rasch zum Ziele führt, die Zellen aber unkenntlich macht (zerstört), ist die Anwendung der konzentrierten Kalilauge. Kleinere Stücke einer frischen Niere werden auf 1—1 1/2 Stunden in konzentrierte Kalilauge gelegt. Die so behandelten Stücke werden in dieser Flüssigkeit zerzupft und untersucht; man hüte sich, Wasser hinzuzusetzen.

593. In analoger Weise wie in der Leber die Gallenkapillaren kann man in der Niere mit Indigokarmin die Harnkanälchen zur Anschauung bringen (Chrzonszczewsky, siehe § 560).

594. Will man Näheres über die **Epithelien** der Harnkanälchen erfahren, so fixiere man ganz kleine Stücke der Niere in Sublimat oder Flemmingscher Flüssigkeit. Die Schnitte führe man so, daſs man entweder die Kanälchen längs im Schnitte oder aber bestimmte Abschnitte senkrecht auf die Längsaxe derselben trifft.

Sehr günstig für die Untersuchung des Epithels der Bowmanschen Kapsel und dessen Übergang in das gewundene Kanälchen ist nach Benda (87a) die Mäuseniere.

595. Um Epithelien isoliert zu bekommen, empfiehlt sich die Macerierung kleiner Stücke in Ranvierschem Alkohol (siehe § 257) oder nach R. Heidenhain (80) in 5 %iger Lösung von neutralem chromsaurem Ammoniak, in welchem besonders klar die Stäbchenstrukturen bestimmter Abschnitte der Zellen der Harnkanälchen zum Vorschein kommen sollen.

Digitized by Google

596. Imprägnationen mit Silbernitrat (mit der Methode von Golgi oder von Cox, siehe § 466 und 470) liefern wichtige Aufschlüsse über die gegenseitigen Beziehungen der Zellen der Harnkanälchen (Böhm und v. Davidoff, 95 und 98).

597. Zur Darstellung der Strichelung der Epithelien empfiehlt Sauer (95):

Alkohol absol.	60
Chloroform	30
Eisessig	10

oder Perényische Flüssigkeit, 3—5 Stunden. Übertragen in absoluten Alkohol, sehr vorsichtiges Übertragen in Paraffin mit Einschaltung von Zwischenflüssigkeiten (siehe § 80). — Färben 1—2 Stunden mit 1,5 %iger Eisenalaunlösung, Spülung mit Wasser, Hämatoxylin (0,5 %iges Hämatoxylin 100 + 5 ccm einer 1 %igen Kalium hypermanganicum-Lösung) 3 Stunden, Eisenalaunlösung, Wasser, Alkohol 90 %ig, Rubin S. (2—3 Tropfen auf 15 ccm 90 %igen Alkohol) wenige Minuten (Membranae propriae und Bürstenbesätze werden intensiv rot).

598. Am **Ureter** und der **Harnblase** wird man namentlich auf das Studium des Epithels einige Zeit verwenden, indem man die erwähnten Organe im kolabierten und dann im gedehnten Zustande untersucht. Letzterer wird dadurch hervorgerufen, dafs man den Ureter, resp. die Harnblase prall mit derselben Flüssigkeit injiziert, in welcher man sie (nach Unterbindung) zu fixieren beabsichtigt. In letzterem Falle erscheint das Epithel aufserordentlich niedrig, in einer bestimmten Weise gedehnt, aber kontinuierlich. (Eine ähnliche Dehnung der Epithelien kann man in allen epithelialen Röhren beobachten.) London (81) und Kann (89).

599. Nebenniere. Chromsäure, chromsaure Salze und deren Mischungen, angewendet in der gewöhnlichen Weise, färben die Marksubstanz der Nebenniere eigentümlich braun. Dieses Verhalten findet auch bei den Tieren statt, bei welchen Mark und Rinde getrennt liegen (Eberth, 71/72, vergl. H. Rabl, 91).

Das in den Zellen der Rinde der Nebenniere vorhandene Fett ist nicht mit dem gewöhnlichen Körperfett identisch, es löst sich nach Osmierung in Chloroform und Bergamottöl (H. Rabl, 91).

Digitized by Google

15. Kapitel.

Geschlechtsorgane.

600. Für das Studium der **Ovarien** wähle man, je nachdem man reifere oder sich entwickelnde Follikel und Eier untersuchen will, das Material. Dabei diene als leitend die Berücksichtigung der Brunstzeit, Eierlegen u. s. w.

601. Will man die Entwicklung der Follikel und Eier studieren, so wähle man embryonales Material oder junge Tiere.

602. Die unreifen Eier der niederen Wirbeltiere, Fische, Frösche, auch Reptilien und Vögel kann man dazu benutzen, um sich daraus frische Präparate anzufertigen. Man braucht nur die unreifen, ganz hellen (gewöhnlich dorsal liegenden) Partien des Eierstockes aufzusuchen, mit einer Schere herauszuschneiden, auf einem Objektträger in einer indifferenten Flüssigkeit auszubreiten und mit schwacher Vergrößerung zu untersuchen.

Will man bei stärkerer Vergrößerung untersuchen, so muß man die kleineren Eier isolieren und vorsichtig mit einem mit Schutzleisten oder Wachsfüßchen versehenen Deckglase bedecken.

603. Aber es gelingt auch, die viel kleineren Eier der Säugetiere zu isolieren. Man führe zu diesem Zwecke mit einem scharfen Rasiermesser einen Schnitt durch ein frisches Ovarium. Die Oberfläche wird mit wenig indifferenter Flüssigkeit benetzt und mit einem Skalpell oder mit der Rasiermesserklinge selbst geschabt. Es werden infolge des sanften Druckes zahlreiche unreife Follikel die Eier in die indifferente Flüssigkeit entleeren, und wenn man diese auf einen Objektträger überführt und mit einer schwachen Vergrößerung untersucht, so findet man das Gewünschte in zahlreichen Exemplaren.

Einzelne davon werden ins Auge gefaßt, die übrigen samt der Flüssigkeit auf einen anderen Objektträger übertragen, um weiter untersucht zu werden. Es wird ein Deckgläschen mit Vorsicht (eventuell mit Schutzleistchen) darauf gelegt, und es ist nun möglich, mit einer stärkeren Vergrößerung zu untersuchen.

604. Die Fixierung der so isolierten Eier auf dem Objektträger, z. B. mit Osmiumsäure durch Räuchern oder durch Zufließen derselben unter das Deckgläschen, ist möglich, man muß aber bei der Überführung der so fixierten Eier in Glycerin oder Alkohol außerordentlich vorsichtig sein, indem man

Digitized by Google

mit den schwächsten Konzentrationen derselben anfängt und dieselbe ganz allmählich steigert, um schliefslich zu der gewünschten zu gelangen.

605. Die reifen Eier, welche bei unseren einheimischen Fischen, Amphibien und Reptilien verhältnismäfsig voluminös und im grofsen und ganzen undurchsichtig sind, kann man nicht ohne weiteres bei durchfallendem Lichte untersuchen; wohl sieht man manches bei auffallendem, wobei entweder Lupe oder die schwächsten Objektive des zusammengesetzten Mikroskops in Betracht kommen.

606. Weit günstiger in dieser Beziehung sind die reifen Eier der Säuger. Ovarien der erwachsenen Tiere unmittelbar vor oder während der Brunstzeit liefern solches Material.

Die gröfsten reifen Follikel, die sich sehr gespannt anfühlen, werden mit einer scharfen Nadel so angestochen, dafs der in einem Strahl austretende, das Ei mit der Zona radiata enthaltende Liquor folliculi nicht in die Höhe spritzt (O. Schultze, 97), sondern in ein Uhrschälchen fliefst. Der Inhalt wird mit Vorsicht unter einer Lupe untersucht und das Ei mit der Zona radiata meist gefunden; es wird vorsichtig mit einer Pipette auf einen Objektträger übertragen, ein Deckglas mit Schutzleistchen (diese sind hier unbedingt nötig) aufgelegt und untersucht.

Wendet man keine Schutzleistchen an, so drückt das Deckgläschen auf das immerhin ziemlich voluminöse Gebilde, und es zeigt alsbald die Zona pellucida einen in der Sehebene liegenden strichförmigen Rifs, was durch die Druckrichtung bedingt ist. Dieser vergröfsert sich allmählich unter steigendem Drucke.

607. Auch solche Eier können wie die unreifen (siehe § 604) fixiert werden; aber hier erfordert es noch mehr Geduld und Übung, um einigermafsen brauchbare Präparate zu erzielen.

608. Um Übersichtsbilder durch Eierstöcke zu erlangen, führen die im allgemeinen Teile angegebenen Methoden mehr oder weniger zum Ziele; vor allem die Flemmingsche Lösung, welche neben anderen Vorzügen den hat, dafs sie die komplizierten Strukturen des Eiprotoplasmas, sowie auch die Zona pellucida vorzüglich erhält. Safranin als Farbe ist hier wohl geeignet.

Sublimat und Zenkersche Flüssigkeit geben z. B. ebenfalls instruktive Bilder; man färbt am besten mit Karmin oder Hämatoxylin. Bei diesem letzteren liefert die Kombination mit Eosin demonstrative Bilder.

Digitized by Google

609. Man wählt am zweckmäfsigsten zur Orientierung Eierstöcke kleiner Tiere, wie Mäuse, Ratten, Fledermäuse etc., da dieselben sich viel besser fixieren lassen und leichter zu haben sind. Grofse Ovarien, Kuh, Mensch, lassen sich nicht gleichmäfsig in oben angeführter Flüssigkeit durchfixieren. Man fixiere deshalb in diesem Falle entweder kleinere Stücke wie oben, oder greife zu chromsauren Salzen (siehe § 29 ff.).

610. Das **Keimepithel**, das auf dem Schnitt gut sichtbar ist, kann auch von der Fläche durch Versilberung dargestellt werden (siehe § 265). Das Ovarium wird mit Alkohol nachbehandelt, und ein dünner tangentialer Schnitt zeigt die Silberlinien des Keimepithels.

Ganz kleine Ovarien junger Mäuse, Fledermäuse etc. lassen sich nach der Versilberung im Ganzen einschliefsen und die Silberlinien des Keimepithels bei passender Einstellung beobachten.

611. **Tuben** werden wie Darm behandelt. Da aber die Tube sehr stark und vielfach gewunden ist, so ist es, falls es auf genaue Querschnitte ankommt, notwendig, die Tube vor dem Fixieren zu strecken, indem man zuvor die peritoneale Duplikatur möglichst nahe der Anheftungsstelle der Tube mit einer krummen Schere entfernt, welche Operation bei kleinen Tuben, z. B. von Fledermäusen, einer grofsen Übung bedarf.

612. Auch Einspritzen der Fixierungsflüssigkeit in die Tube nach Abschneiden der Mesosalpinx vor dem Übertragen in die Fixierungsflüssigkeit ist anzuraten. Man sieht dabei, dafs sehr viele Falten sich ausgleichen.

613. Der **Uterus** wird ebenfalls nach der Methode, die im Abschnitt Darm angegeben worden ist, behandelt, Schlauchförmige Uteri bestimmter Tiere, namentlich junger, ganz kleiner Tiere, Mäuse etc., dann Katzen, Hunde, Schafe, lassen sich mit der Fixierungsflüssigkeit, bevor sie in dieselbe eingelegt werden, ebenfalls einspritzen, wobei die Tube, wenn dies erwünscht ist, mitbehandelt werden kann. Die Weiterbehandlung ist die gewöhnliche.

614. Die Scheide behandle man wie Oesophagus oder Haut.

615. Das Flimmerepithel der Tube und des Uterus kann nach dem Aufschneiden der Organe abgeschabt und frisch untersucht, auch können kleinere Fetzen davon entnommen, fixiert und geschnitten werden (siehe § 255 ff.).

616. Die **Spermatozoen** und deren Bewegungen kann man frisch untersuchen. Eine aus den Samenwegen oder

Digitized by Google

einem frisch gemachten Schnitt durch einen Nebenhoden entnommene geringe Menge Samenflüssigkeit wird mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und direkt eventuell auf dem heizbaren Objekttisch beobachtet.

Spermatozoen von Salamandra atra und maculosa lassen mit Leichtigkeit schon bei mittlerer Vergröfserung alle bis jetzt beschriebenen Bestandteile (Spiefs, Kopf, Mittelstück, Schwanz, undulierende Membran, Randfaden etc.) erkennen. Man vergesse nicht, Wasser zuzusetzen; dieses sistiert bald die Bewegungen. Schwache Säuren und Alkalien wirken ähnlich wie bei der Flimmerbewegung.

617. Für Anfertigung von Dauerpräparaten verfährt Ewald (97) wie für Blut und isolierte Epithelien (s. § 263).

618. In den Spermatozoen färbt sich der Kopf mit Kernefärbemitteln und das Verbindungsstück mit dem Reagens auf Centrosomen, der Metallsalz-Hämatoxylinfärbung schwarz. Bei dieser Färbung kommt es nicht auf die Anwendung des Ferriammonsulfates an, sie gelingt auch mit anderen Eisensalzen, sowohl mit Ferri-, als mit Ferroverbindungen, sowohl mit Sulfaten, als mit Chloriden, ja auch mit anderen Metallsalzen, z. B. Kupfersalzen (R. Fick, 93 a).

619. Spermatozoen, entnommen Kadavern, welche unter besonderen Kautelen im Wasser gelegen haben, zeigen Fibrillen des Achsenfadens (E. Ballowitz, 88).

620. Hoden. Für die Untersuchung der Spermatogenese ist die Wahl des Materials von Belang (Jahreszeit, Alter, Gröfse der Elemente etc., bei verschiedenen Tieren). — Man mufs im Auge behalten, dafs, wenn die Hoden vor der Fixierung zerstückelt werden, die Samenkanälchen durch Hervorquellen dislociert werden (Hermann, 93).

621. Orientierungspräparate beschafft man sich dadurch, dafs man kleinere Hoden in gewöhnlicher Weise etwa mit Sublimat oder Pikrinsäure fixiert. Für die feineren histogenetischen Vorgänge ist die Flemmingsche Lösung in angegebener Weise (siehe § 43) anzuwenden; nachträgliche Färbung auf dem Objektträger mit Safranin.

622. Mit sehr gutem Erfolge wendet man die von Hermann (93) empfohlene Flüssigkeit:

für Säugetiere	1 %iges	Platinchlorid	75 ccm
	2 %ige	Osmiumsäure	20 »
		Eisessig	5 »

Digitized by Google

für Salamander 1 %iges Platinchlorid 75 ccm
2 %ige Osmiumsäure 10 »
Eisessig 5 » an.

Man lasse die Flüssigkeit auf nicht zu grofse Stücke 24 Stunden lang, besser länger (wie bei Flemmingscher Lösung) einwirken, wasche mit Wasser aus und entwässere mit Alkohol von allmählich steigender Konzentration 50, 70, 90 %.

So fixierte, auf dem Objektträger aufgeklebte Paraffinschnitte können entweder mit Safranin allein nach der Formel:

1 g Safranin
10 ccm abs. Alkohol
90 ccm Anilinwasser

24—48 Stunden lang gefärbt und dann mit Wasser abgespült, saurem Alkohol und Alkohol absol. (siehe § 206) behandelt oder nach einer solchen Färbung nach der Gramschen Methode nachgefärbt werden, d. h. auf 3—5 Minuten in Gentianaviolettlösung (gesättigte alkoholische Lösung 5 auf 100 Anilinwasser [Anilinöl 4 wird mit 100 ccm dest. Wasser geschüttelt und filtriert]) gefärbt, in Alkohol flüchtig abgespült und mit Jod-Jodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300) 1—3 Stunden behandelt werden, bis die Schnitte vollkommen schwarz werden; nun werden sie in Alkohol übertragen, bis sie violett mit einem Stich ins Bräunliche werden. Die Chromatinnetze der ruhenden Kerne, sowie auch im Spirem- und Dyspiremstadium erscheinen blauviolett, die echten Nukleolen rot tingiert. Im Aster-Dyasterstadium dagegen färbt sich das Chromatin rot u. s. w. (siehe Hermann, 93).

Die Protoplasmastrukturen sind ebenfalls sehr deutlich sichtbar und gelbbraun tingiert. Die Köpfe, die Mittelstücke, Schwänze, Spiralfedern etc. erscheinen deutlich und in verschiedenen Farben rotblau, violettblau etc.

Hermann (91) legt kleine Objekte (z. B. Proteushoden) in: Hämatoxylin 1 g, absoluten Alkohol 70, Wasser 30 auf 12—18 Stunden im Dunkeln. Auswaschen in 70 %igem Alkohol im Dunkeln. Paraffinschnitte, Ausziehen mit hellrosa Kaliumpermanganat, bis sie ockerfarbig werden, weitere Entfärbung mit 5—10fach verdünntem Palschem Gemisch (siehe § 485). Safranin 3—5 Minuten. Besonders geeignet zur Hervorhebung der achromatischen Elemente, Centralkörper etc.

623. Um Spermatozoen aufzubewahren, kann man sich Trockenpräparate, wie bei Blut (siehe § 291), anfertigen

Digitized by Google

und färben, z. B. mit Safranin u. s. w. Viel bessere Resultate erzielt man, wenn frisches Sperma mit Osmiumsäure geräuchert wird (siehe § 39).

Reife Spermatozoen sind gegenüber verschiedenen Reagentien sehr resistent und lassen sich leicht konservieren.

624. Für das Studium der Spermatogenese empfiehlt Benda (87b) folgendes Verfahren: In Flemmingscher Lösung konservierte Hodenstücke werden geschnitten, aufgeklebt und 24 Stunden im Thermostat auf 38—40° C. in einer sehr starken Lösung von Kupferoxyd gelassen. Sie werden sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und kommen in eine 1%ige wässerige Hämatoxylinlösung, bis sie intensiv schwarz werden, was etwa 5 Minuten in Anspruch nimmt. Sie kommen dann in eine $^1/_2$%ige wässerige Salzsäurelösung, bis die Schnitte gelb werden, und aus dieser in die Kupferlösung zurück, worin sie so lange bleiben, bis sie violettblau werden. Dann werden sie mit destilliertem Wasser abgespült, mit Alkohol behandelt und in Canadabalsam übergeführt.

16. Kapitel.

Embryologische Technik.

625. Es bietet sich bei uns Gelegenheit, **Embryonen resp. abgelegte befruchtete Eier** mit Leichtigkeit zu erlangen, daher lassen wir einige diesbezügliche Notizen und Erfahrungen hierüber folgen.

626. Im Frühjahr und im Sommer hat man Gelegenheit, zahlreiche Eier und Cocons verschiedener **wirbelloser** Tiere, namentlich Schnecken in den stehenden Gewässern, Bächen, die nicht rasch fliefsen u. s. w., zu sammeln, was, wenn die Eier nicht zu weit entwickelt sind, allgemein interessantes Beobachtungsmaterial abgibt. Man kann beispielsweise das Austreten der Richtungskörperchen an der Tellerschnecke und weiter die Furchung frisch am lebenden Ei beobachten. Anleitung hierzu gibt Häcker (99).

627. In dem im Darm der Pferde (namentlich im Winter) vorkommenden Spulwurm Ascaris megalocephala hat man ein verhältnismäfsig leicht zu beschaffendes Objekt für das eingehendste Studium der Befruchtung sowohl, als der Teilungsvorgänge an sich furchenden Eiern. In den verschiedenen Regionen der Eiröhren desselben Tieres findet man zahlreich die verschiedensten Stadien: Eindringen des Zoosperms, Bildung des Spermakerns, Bildung der Richtungskörper etc. bis zur Furchung. Die Ascaris der Pferde kommt in zwei Varietäten vor: die eine hat vier und die andere gar nur zwei Chromosomen in den somatischen Zellen (Boveri).

Man verfährt folgendermafsen: Der Wurm wird aufgeschnitten, die Eiröhre auspräpariert (ohne Zerren!) und in

Digitized by Google

Pikrinessigsäure-Lösung (§ 648) auf 24 Stunden gelegt, 24 Stunden in fliefsendem Wasser und dann in 70 %igem Spiritus ein paar Tage gewaschen; gefärbt wird in alkoholischem Boraxkarmin 24 Stunden und ebenso lange mit 1 Salzsäure auf 100 ccm 70 %igem Spiritus behandelt; es wird wieder mit 70 %igem Spiritus gewaschen. Die Eier werden nun in ein Gemisch von Glycerin 1 und abs. Alkohol 3 übertragen; der Alkohol verdunstet, und so werden die Eier allmählich in reines Glycerin übergeführt (Boveri, 87).

628. Fischeier sind gelegentlich das ganze Jahr hindurch zu bekommen. Bei den meisten kann man frisch an der Oberfläche den Keim bei günstiger Beleuchtung sehen und studieren.

Die Laichzeit einiger Fische notieren wir nach dem bayerischen Königskalender (83) und nach H. Stork: Äsche: März, April; Amaul: April, Mai; Barbe: Mai, Juni; Barsch: März, April, Mai; Bartgrundel (Schmerle): März, April; Elritze: Mai, Juni; Felchen: November, Dezember; Forelle: Oktober, November, Dezember; Gareisl (Karausche): Juni; Gründling: Mai, Juni; Hecht: April, Mai; Huchen; April; Karpfen: Mai, Juni; Kaulbarsch: April, Mai; Lachs: September, Oktober, November; (Flufs-)Neunauge: April; Quappe: Januar; Renke: November, Dezember; Rotauge: April, Mai; Saibling: Juni, Oktober, November; Schleie: Mai, Juni; Waller (Wels): Juni, Juli.

629. Die leichteste Methode für rasche Orientierung über die Keime und Embryonen ist das Fixieren der frischen Eier in einer $^1/_8$ %igen Chromsäure 12—24 Stunden. Man übertrage alsdann die Eier in fliefsendes Wasser, nach einigen Stunden hebt sich die Eischale etwas ab, was allerdings eine geringe Kompression des Eies bedingt. Ist die Eihaut abgehoben, so kann man den Teil des Eies, welcher die Keimscheibe enthält, indem man das Ei mit der linken Hand festhält, mit einem scharfen Rasiermesser abschneiden. Die so abgetragenen Segmente werden noch weiter mit Wasser gewaschen, bis die gelbe Farbe die Embryonen resp. die Keime vollständig verläfst. (Der Dotter bleibt immer etwas gefärbt.)

630. Für die Untersuchung von jungen Forellen-Keimscheiben empfiehlt H. Virchow (Kopsch, 98) eine Vorbehandlung der ganzen Eier mit Chromsäure 2, destilliertem Wasser 900, Eisessig 100 etwa 10 Minuten lang; für Embryonen mit kleiner werdendem Dotterloch eine etwas kürzere Zeit bis zu 5 Minuten. Die Eier werden nun in eine 2 ‰ige wässerige Chromsäure gebracht und dann einzeln, wenn möglich sofort, weiter behandelt: Man überträgt das Ei in eine physiologische Kochsalzlösung, eröffnet dasselbe schonend, entfernt die Eihaut und bläst den nicht geronnenen Dotter von der Keimscheibe mit einem mit der erwähnten Kochsalzlösung gefüllten, fein ausgezogenen Röhrchen weg. So vom

Digitized by Google

Dotter gereinigte Keimscheiben fixiert man nun vollends z. B. mit Sublimat (2 St.), Flemmingschem Gemisch (sorgfältiges Auswaschen!) u. s. f. Derart behandelte Keimscheiben bieten gute Oberflächenansichten und lassen sich gut in Paraffin schneiden.

631. Gute Resultate erzielt man (sehr junge Forellenkeime) mit Sublimat-Eisessig. 80 ccm konz. wässerige Sublimatlösung und 20 ccm Eisessig läfst man $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden lang einwirken. Die so fixierten Eier werden in 70 %igen Spiritus übertragen, und nach 1 Stunde werden, wie dies in § 629 bereits angegeben worden ist, die Keime mit dem Rasiermesser abgeschnitten. Die weitere Behandlung wie bei Sublimat (siehe § 51), nur darf man zum Aufbewahren keinen stärkeren Alkohol wie 85 %igen anwenden. Noch besser ist folgende Methode: Die Eier kommen in eine stärkere Sublimat-Eisessiglösung (20 %ig) und schon nach weniger wie einer halben Minute trübt sich der Keim — ist also abgetötet. Alsdann überträgt man die Eier in eine schwächere (5 %ige) Sublimat-Eisessiglösung, resp. giefst die nötige Menge reiner Sublimatlösung hinzu; nach $^3/_4$ Stunden etwa kommen die Eier in 70 %igen Spiritus (mit ein paar Tropfen Jodtinktur), und wiederum nach ca. $^3/_4$ Stunden wird die den Keim enthaltende Kugelkalotte sorgsam mit einem scharfen Rasiermesser mit möglichst wenig Dotter abgetragen. Die Keime dürfen nicht mit stärkerem Spiritus als 80 %igem in Kontakt kommen. In dieser Weise konserviertes Material läfst sich mit gewisser Übung (auch ohne Anwendung der kombinierten Celloidin-Paraffinmethode) nach Durchtränkung mit Paraffin allein mit der Eihaut in lückenlose Serien zerlegen (A. Böhm, 91).

632. Es mufs als allgemeine Regel gelten, dafs das gesamte Fischmaterial möglichst rasch bearbeitet werde; denn werden die Eier längere Zeit in Spiritus aufgehoben, so wird, wenn derselbe auch schwach gewählt wird, die Dottersubstanz doch so hart und brüchig, dafs man sie gar nicht mehr, wenigstens mit gewöhnlicher Paraffindurchtränkung, schneiden kann. Mit reiner Celloidindurchtränkung kann man keine für embryologische Zwecke genügend feinen Schnitte erzielen. Die kombinierte Celloidin-Paraffinmethode führt hier manchmal noch zum Ziele. Liegen aber solche Eier ein paar Jahre in Spiritus, so lassen sich zwar die Keime und Embryonen bei grofser Übung mit Starnadeln und Skalpellspitzen absprengen und weiterschneiden, aber der Dotter nicht mehr.

Man kann solche Objekte auch in gewöhnlicher Weise in Paraffin einbetten und in diesem beliebig lange Zeit aufbewahren.

Diese Methode kann selbstverständlich auch für andere Objekte angewandt werden und empfiehlt sich ganz besonders als zweckmäfsig für Amphibieneier.

633. Man kann sehr leicht bei den Fischen eine sogenannte künstliche Befruchtung der Eier vornehmen. Zur Zeit,

Digitized by Google

wo die Geschlechtsprodukte reif sind, was man daran erkennt, dafs beim leichten Streichen der Bauchseite die Geschlechtsprodukte, Eier resp. Sperma (Milch), ohne weiteres abgegeben werden, verfahre man folgendermafsen: In eine reine Schüssel werden die Eier eines Rogners durch mehrfaches sanftes Massieren vom Kopf bis zur Analöffnung zum Austritt gebracht. Man darf dieses Verfahren nur so lange fortsetzen, bis eine Spur Blut aus der Analöffnung herauskommt. Es wird wenig Milch in derselben Weise gewonnen und auf die Eier möglichst gleichmäfsig verteilt, dann das Ganze ohne jeglichen Zusatz (trockene, sog. russische Methode) umgerührt, etwa mit der Fahne einer Gänsefeder, dann wird Wasser zugesetzt, und zwar so viel, dafs die Eier reichlich damit bedeckt werden. Es wird wiederum einige Minuten gewartet (bis 10 Minuten), das mit Milch getrübte, weifslich aussehende Wasser abgegossen und durch frisches so oft ersetzt, bis die Trübung nicht mehr wahrzunehmen ist. Die Besamung ist vollzogen, und man kann die Eier in reinem fliefsendem, z. B. Wasserleitungswasser zur Weiterentwickelung bringen. Für diesen Zweck gibt es ganz spezielle Apparate.

Die künstlich befruchteten Forelleneier kann man, unmittelbar nach der Besamung beginnend, öfter (etwa alle 5 Minuten) nach § 631 konservieren (die Eihaut darf man nicht zu entfernen suchen) bis zum Auftreten der ersten Furche etwa. — An solchem Material, welches man schneidet und passend färbt, kann man die Befruchtung — eingedrungenes Zoosperm, Bildung der Richtungskörper, des Eikernes, des Furchungskernes etc. — studieren.

Wir heben hier die Vorzüge dieses Objektes hervor: Leichtigkeit der Beschaffung kontinuierlicher Serie, relative Leichtigkeit der Konservierung, Klarheit der Bilder. Wir empfehlen dieses Objekt für Demonstrationen und Studium.

634. H. Blanc bedient sich folgender Methode: Forelleneier, welche nach der russischen Methode (siehe § 633) befruchtet sind, werden in Pikrinschwefelsäure und Eisessig fixiert (600 Vol. Wasser, 2 Vol. Schwefelsäure, 100 Vol. konzentrierte Pikrinsäure und 8 Vol. Eisessig). Die Eier können in dieser Flüssigkeit einige Stunden bleiben, ein längeres Verbleiben schadet keineswegs. Die Eier werden sodann in einer 10 %igen Essigsäure eröffnet, welche den Dotter löst und die Extraktion des Keimes mit Hilfe einer Lancette und des Pinsels erlaubt. Die Keimscheiben werden mit 80—90 %igem, dann absolutem Alkohol behandelt, mit Boraxkarmin gefärbt und in toto in Balsam oder Glycerin eingeschlossen. Bei jungen Stadien muss man den animalen Pol des Eies abschneiden, man erhält dann die Keimscheibe und die Schalenhaut.

635. Amphibien. Ende März bis Mitte April findet man in Teichen, Pfützen und Bächen Frosch- und Krötenlaich. Die

Digitized by Google

Frösche laichen in Klumpen, die Kröten in Schnüren. Solche Eier kann man schon frisch der Untersuchung unterwerfen und bei auffallendem Licht beispielsweise die Furchung studieren.

Die Paarungszeit ist bei: Triton alpestris März bis Mai; T. cristatus April bis Juni; T. taeniatus Mai; Rana esculenta Mai und Anfang Juni; R. temporaria März; Pelobates fuscus Anfang April; Bombinator igneus Mai und Juni; Alytes obstetricans zweimal im Jahre (Frühjahr und Herbst); Bufo vulgaris und variabilis April; B. calamita im Frühjahr, zuletzt unter den Kröten (vgl darüber auch A. Franke, 81).

636. O. Schultze (99) hat durch jahrelange Versuche an Froscheiern eine Fixierungsmethode herausgefunden, welche ihn nun befriedigt. Nach der Entfernung der Gallerthülle bis auf die die Dotterhaut umgebende innerste Gallertschicht kommen die Eier für 5 Minuten in eine 2 %ige (20 mal verdünnte) wässerige Formalinlösung von 75—80° C. Sie sterben momentan ab, die Hüllen heben sich vom Ei ab, und dieses kann mit Leichtigkeit mit Nadeln herausgeholt werden. Die Eier nehmen eine elastische, lederähnliche Konsistenz an bei ausgezeichnet erhaltenen Oberflächenzeichnungen und lassen sich ideal schneiden; sie lassen sich monatelang in der 2 %igen Formalinlösung in den schützenden Hüllen aufheben, ohne dabei ihre guten Eigenschaften zu verlieren. O. Schultze (99) empfiehlt für die Durchtränkung mit Paraffin folgenden Weg: Geschälte Eier kommen aus der Formalinlösung in 70 %igen, dann 95 %igen Alkohol, dann in Bergamottöl je 2 Stunden mindestens, darauf auf 10 Minuten in einmal gewechseltes Paraffin und werden dann eingebettet. Ob diese Methode für andere dotterreiche Eier sich ebenso gut eignet, hat O. Schultze nicht erprobt.

637. O. Hertwig (83) behandelt die Eier mit einem auf ca. 90° gewärmten Wasser etwa 5 Minuten. Dann kühlt er die Eier rasch ab, indem er zu dem warmen Wasser kaltes hinzugiefst, und schält nun die Eier also: Er fafst die Schleimhülle mit einer Pincette und schneidet mit einer sehr scharfen Schere dicht am Ei vorbei; es gelingt oft, schon nach dem ersten oder zweiten Schnitt bei einer gewissen Übung den Eiraum zu eröffnen, und es fällt dann ohne weiteres das Ei heraus. Das so auspräparierte Ei wird nun mit Spiritus von allmählich ansteigender Konzentration weiter behandelt.

638. Um die Schleimhülle zu entfernen, verfährt Whitman (88) folgendermafsen:

Eine 10 %ige Lösung des Natriumhypochlorids wird mit 5 bis 6 Teilen Wasser vermengt. Die durch Hitze oder anders abgetöteten Eier kommen in diese Lösung so lange, bis sie aus der Schleimhülle herausfallen.

Digitized by Google

639. Die mit Chrom-Osmium-Essigsäure beispielsweise fixierten Eier können auch, nachdem sie gut mit Wasser gewaschen worden sind, in eine aufs 3—4fache verdünnte Lösung von aqua Javelli kommen. In dieser verbleiben sie $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, während welcher Zeit das Gefäfs einigemal geschüttelt wird; die von der Gallertschicht befreiten Eier senken sich zu Boden, werden vorsichtig mit Wasser gewaschen und allmählich in stärkeren Spiritus übergeführt (Blochmann, 89).

Auch Eier von Tritonen, die einzeln an Grashalmen etc. abgelegt werden, lassen sich mit gutem Erfolg in derselben Weise fixieren und weiter behandeln.

Zur Fixierung geschälter Amphibieneier ist die Sublimatchromsäure (siehe § 56) geeignet.

640. R. Fick (93b) verfährt folgendermafsen: Die Eier werden mit den Hüllen in Chrom-Essigsäure (25 ccm 1 %ige Chromsäure + 75 ccm Wasser + 0,1 Eisessig) 24 Stunden fixiert, geschält, 24 Stunden in fliefsendem Wasser belassen, entwässert (60 %iger, dann 80 %iger Spiritus je 24 Stunden), mit alkoholischem Boraxkarmin 24 Stunden gefärbt, mit salzsaurem, 70 %igem Alkohol ausgezogen, 90 %iger Spiritus, Bergamottöl (2—4 Stunden, nicht länger), Paraffin 50° Schmelzpunkt $^1/_2$—1 Stunde (nicht länger, sonst werden die Eier hart und brüchig), schneiden 10—15 μ dick (vergl. O. Schultze, 87).

641. Barfurth (93) empfiehlt Einlegen in Wasser von 80° C. für einige Minuten oder in Chrom-Essigsäure (Flemming) von derselben Temperatur. Mit letzterer Methode fixierte Eier wasche man 24 Stunden mit Wasser, schüttle, wobei die Gallerthülle weggeht. Oder man behandle mit Eau de Javelle der Apotheke, welches man auf das dreifache verdünnt (im Brütofen rascher, wie bei Zimmertemperatur), wobei bei vorsichtiger Bewegung des Glases die Hülle bald ganz entfernt wird. Vorsicht nötig; Materialverlust! — Weitere Behandlung wie nach Fick-Schultze, siehe § 640. — Objekte in den Hüllen werden am besten konserviert (nach Abtöten in Wasser von 80° C.) in: Alkohol 125, Glycerin 25, Wasser 350; geeignet für Zeichnen und Demonstrieren.

642. Voluminöse Amphibieneier (Salamandra mac. z. B.) färbe man vor dem Schneiden, schneide in weichem Paraffin (45—50° C. Schmelzpunkt) und befestige auf dem Objektträger entweder mit folgender, von Born empfohlener Methode: Man mische 2 Vol. Kollodium, 2 Vol. Äther, 3 Vol. Ol. Ricini (Strassersche Klebemasse), damit wird der Objektträger mittels eines Glasstabes in dünner Schicht überzogen oder befestige mit Eiweiss-Wasser, siehe § 146. Nachdem man die Schnitte aufgelegt hat, erwärmt man den Objektträger ein wenig, Paraffin soll nicht schmelzen, wobei sich die Schnitte ausbreiten. (Borns Tischchen § 142). Ist ein Objektträger

Digitized by Google

voll, so überstreicht man die ganze, die Schnitte tragende Fläche mit einem weichen Pinsel mit der Collodium-Ricinusölmischung. Jetzt kommen die Objektträger entweder direkt in Xylol oder nach Eiweissbefestigung durch Spiritus etc. in Canadabalsam. Absoluter Alkohol ist ausgeschlossen, daher Stückfärbung (R. Semon).

643. Reptilien. Im Mai, Juni und später trifft man trächtige Eidechsen an, denen man nach geeigneter Tötung die Eier entnehmen kann. Da die Tiere (aufser den viviparen) die Eier in ziemlich frühem Stadium ablegen, findet man meistens nur junge Stadien vor.

	Paarung	Geburts-, resp. Legezeit
Lacerta agilis . .	Mai bis Juni	
» muralis .	April	Juli
» vivipara .	Ende April	Mitte Juli
Anguis fragilis . .	Mai	August (sogar Oktob.)
Pelias berus . . .	Anfang April bis Mai	Ende August bis Anfang September
Coronella austriaca	Mitte April	Ende August bis Anfang September
Tropidonotus natrix	Mitte Mai	Mitte Juli bis Ende August

(Vergl. darüber auch A. Franke, 81.) Selbstverständlich ist hierbei der Standort, von welchem die Tiere bezogen werden, zu berücksichtigen.

644. Man erzielt die besten Resultate, wenn man frisch unter physiologischer Kochsalzlösung die Schalenhaut entfernt, was man nicht allzu schwer erreicht, wenn man mit einer spitzen Pincette das Ei so fafst, dafs sich eine niedrige Falte bildet; diese wird mit einem möglichst langen Schnitt entfernt. (Ist die Öffnung eine sehr kleine geworden, so kommt es zur Bildung eines Extraovats, welches in der Regel mit dem Platzen der Dotterhaut, resp. Ausfliefsen des Dotters [das Ei geht dabei zu Grunde] endet.) In der Fortsetzung des Schnittes hebe man abermals eine Falte auf und schneide weiter ringsum, bis das Ei aus der Schalenhaut fällt.

645. Ist es gelungen, das Ei, ohne es zu verletzen, von den Eihüllen zu befreien, so wird es mit einem passenden Hornlöffel in die Fixierungsflüssigkeit übertragen, und als solche eignet sich am bequemsten eine $^1/_3$ %ige Chromsäurelösung 24 Stunden (für Übersichtsbilder), Pikrin-Schwefelsäure 5 Stunden oder Sublimat-Eisessig (siehe § 60 und 631) 1 bis $1^1/_2$ Stunden oder Sublimat-Chromsäure (siehe § 56) 2 Stunden. Nach dieser Frist werden die Eier in Wasser übertragen und

Digitized by Google

die Area embryonalis resp. vasculosa mit einer scharfen, spitzen Schere umschnitten und dann mittels eines Hornlöffels in Alkohol übertragen (nach Sublimat: Jodzusatz!).

646. In späteren Stadien der Entwickelung, nachdem sich die Keimblätter bereits differenziert haben, läfst sich der Keim allein nach Entfernung der Dotterhaut, welche Operation in späteren Stadien keine Schwierigkeit mehr zu machen pflegt, abheben.

647. Bei den jüngeren Stadien entferne man den fixierten Keim mit einer darunter liegenden Dotterschicht und behandle das Ganze weiter.

648. Eine (für den Anfänger namentlich) recht bequeme Methode, die übrigens nicht einmal schlechte Resultate gibt, ist die folgende:

Man übertrage die Eier mit Schalen in Pikrin-Schwefelsäure auf 5—6 Stunden oder in Pikrin-Essigsäure (konzentrierte wässerige Pikrinsäure wird mit 2 Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung 1 % Eisessig zugesetzt [auf das ganze Volumen berechnet]) auf 24 Stunden.

Hierauf überträgt man die Eier in destilliertes Wasser und entfernt darin die Schalenhaut mit Pincette und Schere, was mit grofser Leichtigkeit geschieht. Die weitere Behandlung nach der Entfernung der Eihaut und Herausschneiden des Embryos resp. Keimes ist wie die oben angegebene.

649. Man findet gelegentlich zu Haufen abgelegte Eidechsen- und Schlangeneier; diese letzteren enthalten stets spätere Entwickelungsstadien, resistentere Embryonen, die schon spiralig gewunden sein können, an denen man Pulsation des Herzens u. s. w. wahrnimmt.

Die Eier sind gewöhnlich kollabiert, wenn sie etwas eingetrocknet sind, die Embryonen darin brauchen aber nicht tot zu sein. In feuchtem Moos oder ähnlichem nehmen sie die ursprüngliche Spannung wieder an.

650. Junge Reptilieneier (Befruchtung, Furchung; erstere Stadien sind an den dünnen, leicht mit zwei Pincetten abziehbaren Schalen kenntlich), die man bisweilen im Eileiter findet, fixiere man wie oben angegeben nach dem Schälen und übertrage sodann die ganzen Eier in 70 %igen Spiritus. Nach 24 Stunden bringe man die Eier in 80 %igen Spiritus und schneide nach 2—4 Stunden die Keimscheiben vom Dotter mit dem Rasiermesser ab, indem man die Eier vorsichtig mit den Fingern fafst. Die Keimscheiben können dann weiter behandelt, mit Paraffin durchtränkt und geschnitten werden, Stück- oder Schnittfärbung (siehe § 673).

651. Eine Methode, welche uns im Sommer 1893 sehr gute (erprobt an Blindschleichen und Eidechsen) Resultate gegeben hat, namentlich in Bezug auf die Ausnützung des Materials, ist folgende: 2—3 Stunden Sublimat-Eisessig (5 %

Digitized by Google

von letzterem), dann übertragen in eine gesättigte Pikrinsäure in Wasser 8—12—24 Stunden; es wird in Wasser geschält und ganze Eier oder abgelöste Embryonen, in 70 %igen Spiritus übertragen, dann in gewöhnlicher Weise weiter behandelt. Materialverlust ist bei einiger Übung sehr gering, das Färben mit Boraxkarmin, Hämalaun im Stück gelingt stets, die Konservierung ist tadellos. — Wir heben ausdrücklich hervor, dafs sich sehr junge Stadien auf diese Weise ebenfalls behandeln lassen.

652. Das bequemste Material zur Untersuchung von **Vogeleiern** sind die Hühnereier, von denen nur die ersten Furchungsstadien sehr schwer zu bekommen sind. Die Furchung des Hühnereies geht parallel mit der Bildung des Eiweifses und der Schalenhäute (resp. Schalen) im unteren Abschnitt der Tube und im sogen. Uterus u. s. w. vor sich. Das Ei wird abgelegt im Stadium des durchfurchten Keimes, wenn sich eben die Keimblätter anfangen zu bilden (einzelne Vögel, z. B. Kanarienvögel, legen die Eier in viel jüngeren Stadien ab, Rauber, 76) Die weitere normale Entwickelung geht aufser dem Mutterleibe bei Luftzutritt bei einer höheren (37—40° C.) Temperatur (Bruttemperatur) vor sich und ist nicht schwer zu untersuchen. Das Brüten kann entweder der Henne überlassen werden, oder in einem gewärmten Raume vor sich gehen. Ein beliebiger Thermostat (siehe § 82), auf die geforderte Temperatur geheizt, kann diesem speziellen Zwecke dienen und in einen Brutofen umgewandelt werden, man kann so in bequemer Weise alle möglichen Entwickelungsstadien erlangen. Die Brütedauer beträgt bei der Taube 17—19 Tage, bei Huhn und Ente 21 Tage, Gans 29 Tage, Pfau 31 Tage.

653. Am leichtesten sind die Keimscheiben vom Ende des zweiten Brütetages an zu präparieren. Zunächst wird die Eischale am stumpfen Pol, wo sich der Luftraum befindet, aufgeschlagen, die Schalenhaut mit einer Pincette eröffnet und das Eiweifs zum Ausfliefsen gebracht, während man mit einer starken Schere die Schale entfernt. Man hat dabei auf die Chalazen zu achten und dieselben erst an der einen Seite und dann an der anderen Seite abzuschneiden, indem man sie mit dem Eiweifs durch passendes Neigen und Drehen des Eies zum Ausfliefsen bringt. Hat man die Schale so weit umschnitten, bis man dicht an der Dotterhaut angelangt ist, wobei das meiste Eiweifs bereits entfernt wurde, so giefse man den Dotter sehr vorsichtig entweder in eine indifferente Flüssigkeit, z. B. eine auf die Bruttemperatur erwärmte $^1/_2$ %ige Kochsalzlösung, oder direkt in die fixierende Flüssigkeit. Ist das erstere der Fall, so ziehe man vorsichtig mit der Pincette die Reste des Eiweifses in der Region der Keimscheibe weg, man beobachte frisch, was zu sehen ist, Pulsation des Herzens etc., und umschneide mit einer scharfen Schere den Keim um den Sinus terminalis. Die Dotterhaut, falls sie

Digitized by Google

nicht von selbst abgegangen ist, wird durch sanftes Anfassen derselben mit Pincette entfernt und der Keim auf einem Spatel oder einem Uhrschälchen aufgefangen, die Kochsalzlösung möglichst abgegossen und die Fixierungsflüssigkeit tropfenweise auf den Embryo selbst gebracht. Als Fixierungsflüssigkeit kann man bei Vogel-Embryonen Salpetersäure, Pikrinschwefelsäure u. s. w. für Orientierungspräparate oder Flemmingsche, Zenkersche Lösung für Studienzwecke anwenden.

Man kann aber auch folgendermafsen verfahren: Der Dotter, mit möglichst wenig Eiweifs, wird in die Fixierungsflüssigkeit übertragen. In dieser koagulieren die Reste des Eiweifses allmählich und werden mit Pincette resp. Pinsel schichtenweise entfernt, bis die Dotterhaut in der Region des Embryos vollkommen blofsliegt. Das Ei wird in dieser Fixierungsflüssigkeit, je nach derselben, längere oder kürzere Zeit belassen, z. B. in Chromsäure 24 Stunden, in einer 3—5 %igen Salpetersäure 2—3 Stunden, Pikrinschwefelsäure 3—4 Stunden u. s. w. Nach dieser Zeit werden die Keime ganz oder in älteren Stadien um den Sinus terminalis umschnitten und weiterbehandelt; die Dotterhaut durch Schütteln des Keimes in einer Uhrschale, resp. durch sanftes Ziehen mit der Pincette entfernt; aus der Chromsäure werden sie mit Wasser gewaschen und aus der Salpeter- und Pikrinschwefelsäure in 70 %igen Spiritus nach den bekannten Regeln übertragen.

Verfolgt man spezielle Zwecke, so steht der Anwendung anderer Fixierungsflüssigkeiten nichts im Wege.

654. Die Keime können gefärbt und geschnitten, resp. geschnitten, aufgeklebt und gefärbt werden.

655. Solche Keime, die man vorher gefärbt hat, kann man aber auch als Übersichtspräparate ganz einschliefsen, indem man die gefärbten Keimscheiben vorher entwässert und durch Xylol in Canadabalsam überführt. Man unterlasse nie, der Dicke des Keimes entsprechend, dicke Schutzleisten anzuwenden; ohne diese Vorsicht werden die Keimscheiben stark platt gedrückt und die Organe verschoben.

656. Ganz instruktive Bilder erhält man, wenn man zu der Salpetersäure von der eben angegebenen Konzentration 5—10 ccm einer 1 %igen wässerigen Silbernitratlösung auf 100 ccm hinzusetzt. Es erscheinen dabei sehr reine Silbergrenzen.

657. Die angegebenen Verfahren werden bei gröfseren Embryonen etwas modifiziert werden müssen, und ebenso bei ganz jungen Stadien.

Bei diesen letzteren ist die Anwendung des Sublimats nicht zu umgehen. Möglichst vom Eiweifs befreite Dotter kommen in eine Sublimat-Eisessiglösung auf circa 2 Stunden, die Keimscheibe wird rasch mit dem darunter liegenden

Digitized by Google

Dotter umschnitten und sehr vorsichtig mit einem Hornlöffel abgehoben. Die weitere Behandlung, siehe Sublimat-Eisessig-Stückfärbung mit Boraxkarmin, ist in diesem Falle sehr zu empfehlen.

658. Auch andere Vogeleier sind bei uns leicht zu beschaffen, z. B. von Tauben, Sperlingen etc. Manche Vogeleier sind infolge der besonderen Zähigkeit des Eiweifses sehr schwer zu behandeln, z. B. Kiebitzeier, eine Eigenschaft, die sie mit Schildkröteneiern teilen.

659. Säugetiere. Die Embryonen, die man zum systematischen Studium am leichtesten bekommt, sind die des Kaninchens und des Meerschweinchens.

660. Die Tragzeit beträgt bei Maus und Meerschwein 3, Kaninchen und Ratte 5, Igel 7, Katze 7—8, Hund 8—9, Schwein 17—18, Schaf und Ziege 20—21, Reh 24, Kuh 40, Pferd 48 Wochen.

661. Am meisten Übung und Sorgfalt in der Fixierung erfordern die noch nicht angehefteten Eier. Die trächtigen Uteri werden unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit sorgfältig aufgeschnitten, mit Nadeln (man nehme eine mit Wachs ausgegossene Schale) aufgesteckt, und die Oberfläche des Epithels wird, falls die zu erwartenden Stadien jung, resp. die Eier klein sind, auf das sorgfältigste mit einer Lupe untersucht. Sind die Eier aufgefunden worden, so kann man die indifferente Flüssigkeit mit einer Pipette aufsaugen und mit einer fixierenden vertauschen, oder aber die Eichen selbst können mit einem kleinen Löffelchen aufgefangen und in die fixierende Flüssigkeit übertragen werden.

662. Als Fixierungsflüssigkeit benütze man die Pikrinschwefelsäure bei jungen Stadien (Primitivstreifen, wenige Urwirbel) 1—2 Stunden, worauf die Eier, wie andere Objekte, weiter behandelt werden. Da die Keimblase aber gewöhnlich schrumpft, so empfiehlt es sich, den Embryonalschild mit einer scharfen, spitzen Schere sofort nach der Trübung in der Fixierungsflüssigkeit zu umschneiden.

663. Auch schwache Osmiumsäure, etwa $^1/_3$ %ige, oder Osmiumsäure-Gemische (siehe § 43) führen hier zum Ziel. Spätere Stadien, wenn der Embryo deutlich mit unbewaffnetem Auge sichtbar ist, die Kenntnis der anatomischen Verhältnisse der Lage und der Eihäute des Embryos vorausgesetzt, sind leichter zu behandeln; man gewöhne sich nur, stets unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit zu präparieren.

664. O. Schultze (97) findet es praktisch, die Eröffnung der Fruchtkapseln nicht sofort nach dem Tode vorzunehmen, sondern die durch Querschnitte des Uterus isolierten Kapseln zuerst für $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in Flemmingsche Lösung, starke Mischung, einzulegen. Hierdurch wird die Fruchtkapsel schnell

Digitized by Google

oberflächlich gehärtet und kollabiert nicht mehr beim Aufschneiden, so dafs es leichter ist, die Embryonalanlage von der Schleimhaut zu lösen und in die Fixierungsflüssigkeit zu übertragen.

665. Kleinere Uteri trächtiger Tiere, Mäuse, Fledermäuse etc., können samt dem Inhalt am besten mit Sauerscher Flüssigkeit (siehe § 597), aber auch Sublimat nach den bekannten Regeln fixiert werden. Die den Embryonen entsprechenden Anschwellungen des Uterus werden in toto durchtränkt und in Schnitte zerlegt, am zweckmäfsigsten senkrecht auf die Längsachse des Uterus.

Da die Muscularis des Uterus sehr hart ist, so kann sie unmittelbar vor dem Schneiden in Paraffin mit einem scharfen Skalpell oder Rasiermesser entfernt werden.

666. Die Tube der Mäuse und namentlich der Fledermäuse ist sehr durchsichtig, und wenn man ein frisches corpus luteum bemerkt und am Uterus nichts Verdächtiges findet, so unterlasse man nicht, die Tubenfältchen auf die angegebene Weise (siehe § 611) auszugleichen und in einer indifferenten Flüssigkeit mit einer mittleren Vergröfserung (etwa 70 mal) sich genau anzusehen. Hat man das Glück gehabt, ein sehr junges Ei etwa im Furchungsstadium anzutreffen, so trachte man, dasselbe aus der Tube herauszubekommen, und zwar in der Weise, dafs man die Tube in Stücke zerschneidet. Schon die Kontraktionen der Muskulatur pressen solche unverletzt heraus; oder man hilft sich damit, dafs man solche Stückchen von einem Ende zum anderen mit dem Deckglase drückt, wobei die Eier ebenfalls frei werden. Solche Eier kann man nach derselben Methode wie reife Follikeleier behandeln und dauernd einschliefsen.

667. Säugetiereier in Furchung gewinnt man nach O. Schultze (97) am leichtesten aus dem Eileiter des Kaninchens im Laufe des zweiten Tages nach der Begattung, indem man den mit einem etwa 5 cm langen Stück des Uterus von letzterem abgetrennten und vorsichtig präparierten Eileiter vom Uterinende her mit 0,6 %iger wässeriger Kochsalzlösung (viermal je 1 ccm in vier Schalen von nicht mehr als 4 cm Durchmesser) ausspritzt. Meist findet man beim Durchsuchen mit dem Mikroskop bei schwacher Vergröfserung in den ersten Schalen die Eier.

668. Um Befruchtungsstadien der Maus zu erhalten, schneidet Sobotta (95) die Tuben mit den frisch befruchteten Eiern nach Fixierung in der schwächeren Flemmingschen Lösung (24 Stunden oder etwas länger), Auswaschen in Wasser 60—70 %iger, am nächsten Tage 90 %iger Alkohol, Schnittfärbung mit Eisenhämatoxylin.

Die Begattung findet beim Meerschwein unmittelbar post partum statt, bei Kaninchen und Maus bisweilen ebenfalls.

Digitized by Google

Mufs man aber die Tiere unmittelbar nach dem Wurf töten, so verliert man die Jungen. Sobotta teilt daher mit, dafs bei der Maus 21 Tage post partum ein neuer Ovulationstermin liegt.

669. Sehr leicht ist das Behandeln der Meerschweinchen-eier vom 10.—15. Tage und darüber. Spannt man die Anschwellung des Uterus, die den Embryo enthält, mit Nadeln, schneidet die Muscularis an der dem Mesometrium entgegengesetzten Seite longitudinal an und durchtrennt alsdann vorsichtig die weiche Decidualschicht unter der fixierenden Flüssigkeit ebenfalls mit einem longitudinal verlaufenden Schnitt, so tritt der Zapfen mit dem Embryo unverletzt hervor und kann ohne weiteres fixiert werden. Die Eröffnung geschieht am zweckmäfsigsten unter der fixierenden Flüssigkeit. Jüngere, kleinere Anschwellungen können samt den Eiern wie die der Mäuse behandelt werden.

670. Ohne besondere Schwierigkeiten kann man verschiedene Stadien der Schafembryonen aus den Schlachthäusern sich verschaffen, man verwerte sie aber unmittelbar nach dem Schlachten, denn schon nach wenigen Stunden verändern sie sich sehr stark, ja, jüngere Stadien zerfallen, resp. werden unbrauchbar.

671. Um freie kleine Eier, die im frischen Zustande sehr wenig resistent und vollkommen wasserklar sind, leichter aufzufinden, kann man in den Uterus vor dem Eröffnen z. B. Müllersche Flüssigkeit injizieren und erst, nachdem die Eier fixiert und undurchsichtig geworden sind, den Uterus unter derselben Flüssigkeit vorsichtig aufschneiden, aufstecken, die Eier aufsuchen und weiter behandeln (Hensen, 76).

672. Wie schon für Fische angegeben wurde, ist es von der gröfsten Wichtigkeit, falls man nicht die geeignete Zeit dazu hat, Eier, Keimscheiben und Embryonen auch der übrigen Klassen sofort zu untersuchen, diese möglichst bald zu färben und geeignet orientiert mit Paraffin zu durchtränken; thut man es nicht, so läuft man Gefahr, dafs die Objekte brüchig bis zur Unbrauchbarkeit werden und noch dazu sich nicht färben lassen.

673. Was die **Färbung embryologischen Materials** anbelangt, so empfehlen sich im allgemeinen als Kernfärbemittel Hämalaun und Karmin (Borax- und Alaun- und Parakarmin); weniger geeignet sind hierfür die kernfärbenden Anilinfarben. Sehr gute Dienste leistet hier auch die Doppelfärbung nach Hämalaun mit Eosin oder Pikrinsäure, und nach den Karminen mit Pikrinsäure; bei Befruchtungsstadien versuche man die Doppelfärbung Karmin (im Stück) -Hämalaun (im Schnitt); bei mit Flemmingscher Lösung fixierten Objekten greife man zu Safranin. — Bei Anwendung der Karmine erhält man für nicht zu grofse Embryonen mit Stückfärbung sehr gute Färbungen.

Digitized by Google

17. Kapitel.

Haut, Haare und sensible Nervenendigungen in der Haut.

674. Die Haut des Menschen (Affen) mufs der der anderen Säugetiere für die Untersuchung vorgezogen werden. Da diese in der Regel erst nach vielen Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kommt, so ist es ziemlich gleichwertig, wie sie fixiert wird, Müllersche Flüssigkeit, allmählich stärkerer Alkohol. Kann man frische menschliche Hautstücke z. B. aus chirurgischen Kliniken von Operationen, erhalten, so fixiere man mit Sublimat, Flemmingscher Flüssigkeit oder Osmiumsäure.

Das Schneiden der Haut ist mit vielen Schwierigkeiten verknüpft, und man kann gröfsere Stücke derselben nur in Celloidin schneiden. — Mittelgrofse und kleinere Stücke der Haut lassen sich auch in Paraffin schneiden; hierbei mufs aber folgendes berücksichtigt werden: Die Haut mufs möglichst rasch mit Paraffin durchtränkt werden, d. h. sie darf weder in Alkohol, noch in Toluol etc. lange verweilen. Das zum Schneiden verwendete Paraffin mufs von der weichsten, das Schneiden eben noch zulassenden Sorte sein (etwa von 50° Schmelzpunkt).

Haut, Haare (auch glatte Muskulatur) werden mit der Zeit in Alkohol steinhart; kann das Material nicht sofort verarbeitet werden, so empfiehlt es sich, dasselbe in Paraffinum liquidum überzuführen (siehe § 68) und darin aufzubewahren.

675. Um von der Haut gute Paraffinschnitte zu erhalten, verfährt Barlow (95) folgendermafsen: Die in Osmiumsäure oder in Flemmingscher Lösung fixierten Stücke werden in 96 %igem Spiritus aufgehoben, dann auf höchstens 24 Stunden in abs. Alkohol übertragen und durch Chloroform in Paraffin übergeführt. In Chloroform bleiben sie etwa 1 Stunde und ebenso lange in Chloroform-Paraffin und auch 1 Stunde in reinem Paraffin. Die Paraffinsorte wird am zweckmäfsigsten so zusammengesetzt, dafs man $^2/_3$ Paraffin von 42—45° Schmelzpunkt und $^1/_3$ Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt nimmt. Den Thermostat erwärme man auf 50° C.

Auf dem Objektträger dürfen die Schnitte nicht mit Eiweifs, sondern am besten mit Wasser festgeklebt werden, da beim Erwärmen oder nach einer Behandlung mit Säuren,

Digitized by Google

ja schon bei der Berührung mit Wasser die von Paraffin befreiten angeklebten Schnitte sich werfen.

676. Epidermiszellen können abgeschabt und nach § 255 untersucht werden.

677. An einer frischen Epidermis, die mit Überosmiumsäure fixiert und geschnitten wurde, differenziert sich das Stratum corneum in drei Schichten: in eine schwarze oberflächliche, eine farblose mittlere und eine schwarze tiefere.

678. Das Stratum lucidum an in Alkohol, Chromsäure (gut ausgewaschen) und an in Müllerscher Flüssigkeit fixierten Präparaten färbt sich mit Pikrokarmin gelblich.

679. Im Stratum granulosum lassen sich die **Keratohyalinkörner** durch Karmin (resp. Pikrokarmin), Safranin, Hämalaun färben. Von diesen sind zu unterscheiden die **Eleïdintropfen**, welche sich mit zahlreichen fettfärbenden Substanzen (Alkanna, Osmiumsäure, spritlöslichem Nigrosin), dagegen nicht mit Hämatoxylinen tingieren (vgl. Buzzi in Ledermann und Ratkowski, 94).

680. Einige Eigenschaften der Keratohyalinkörner entnehmen wir den Untersuchungen Waldeyers (82):

Sie lassen sich intensiv mit Karmin und Hämatoxylin imbibieren. In 1—5%iger Kalilauge quellen die Körner in der Kälte auf und werden dabei hell. In der Wärme lösen sie sich gleichzeitig mit den Zellen, worin sie eingeschlossen sind (Pferdehuf). Durch Ammoniak werden die Körner nicht verändert, und man kann dieses Reagens zum Nachweis des Keratohyalins mit Vorteil gebrauchen, da die meisten Gewebe in Ammoniak durchsichtig werden. Salpeter- und Salzsäure wirken ähnlich wie Alkalien. In Essigsäure und Eisessig bleiben die Keratohyalinkörner längere Zeit unverändert; da die Essigsäure die Epithelien rasch zum Quellen bringt und aufhellt, so kann man diese ähnlich wie Ammoniak vorteilhaft zum Nachweis des Keratohyalins benutzen. Das kohlensaure Natron 1%ig macht die gröfseren Schollen durchsichtiger und läfst sie aufquellen. Überhaupt sind die gröfseren Körner weniger widerstandsfähig wie die kleinen. In Alkohol, Chloroform und Äther bleiben die Körner unverändert. In Glycerin-Pepsin-Extrakt und Trypsin lösen sie sich auf.

681. Die Beziehungen der Riffe der Zellen des Stratum Malpighii (spinosum) zu einander sind an dünnen Schnitten wahrzunehmen (vergl. § 271 f.).

Digitized by Google

682. Will man Zellen der Epidermis, namentlich des Stratum Malpighii, isolieren, so empfiehlt sich eine kurze Behandlung mit Trypsin. Frische Epidermis wird in einer wässerigen, in der Kälte gesättigten, filtrierten Lösung von Pancreatinum siccum auf 3—4 Stunden in einem auf 40° gewärmten Raum maceriert. Die so behandelten Stücke können lange Zeit in Glycerin-Wasser-Alkohol zu gleichen Teilen aufbewahrt werden. Solchen Stücken entnommene Fetzen lassen sich zerzupfen und zeigen sehr instruktive Bilder der Riffzellen (Schieffer-decker, 86).

683. Cutis und die Papillen derselben werden an in Flemmingscher Lösung, Überosmiumsäure und Sublimat (nachfärben mit Boraxkarmin) fixierten Präparaten untersucht. (Die Darstellung der Nervenendapparate in den Papillen siehe § 691 ff.) An solchen Schnitten sind die Schweifsdrüsen (glatte Muskeln derselben!) gut erhalten (sehr grofs z. B. in der Achselhöhle des Menschen). Das Bindegewebe der Cutis wird nach der im § 330 angegebenen Methode dargestellt.

684. Für die Darstellung **elastischer** Elemente der Cutis an Schnitten bediene man sich des Weigertschen Verfahrens (siehe § 326) und der Taenzer-Unnaschen Orceïnmethode (siehe § 327); ferner erwähnen wir folgende Methoden:

685. Nach Stöhr und O. Schultze färbt Safranin, nach der Methode von Flemming für Kernfärbung angewendet, auch elastische Fasern der Haut und der Gefäfse rot.

Mit Osmiumsäure behandelte Präparate zeigen ebenfalls gefärbte elastische Fasern.

686. Nach Martinotti kommen frische Gewebsstücke von 2—3 ccm in eine 2%ige Lösung von Arsensäure auf 24 Stunden, dann auf 5—15 Minuten in Müllersche Flüssigkeit, dann in folgende Lösung: 2 g Silbernitrat werden in 3 ccm destillierten Wassers gelöst und 15—20 ccm reines Glycerin zugefügt. Nach 24 Stunden wird mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol gebracht und in diesem geschnitten. Die Schnitte kommen ganz kurz in eine physiologische Kochsalzlösung, dann in absoluten Alkohol, Kreosot, Canadabalsam.

Um nach der Färbung mit der Martinottischen Methode die elastischen Fasern rein schwarz, resp. den Grund farblos zu erhalten, empfiehlt Ferria, die Schnitte eine kurze Zeit

Digitized by Google

in Ätzkalilösung zu behandeln, resp. bis 24 Stunden in absolutem Alkohol liegen zu lassen.

687. Haare von Menschen und Tieren können unmittelbar unter das Mikroskop gebracht und unter Wasser untersucht werden. Die Nager haben eine sehr entwickelte Marksubstanz, und bei denselben ist auch das Oberhäutchen prägnant zu sehen. Für das Isolieren der Rinden- und Oberhäutchenzellen empfiehlt sich das Macerieren in Kalilauge (von 33 % unter Erwärmen, oder tagelang bei gewöhnlicher Temperatur) oder Natronlauge; mit Schwefelsäure konzentriert oder verdünnt, erzielt man ähnliche Resultate; auch Ammoniak (wochenlange Maceration) führt zum selben Ziel. — Man erwärmt das Haar mit Schwefelsäure in einem Uhrschälchen, bis sich das Haar zu krümmen beginnt, und untersuche alsdann in Wasser: Rinden und Markschicht zerfallen in ihre Bestandteile, das Haaroberhäutchen ebenfalls.

688. Für die Untersuchung der **Haare** und deren **Wurzelscheiden** verwende man mit Müllerscher Flüssigkeit oder mit Alkohol fixierte Objekte, welche beliebig gefärbt und so geschnitten werden, dafs die Haare entweder genau quer oder längs (das Orientieren macht oft Schwierigkeiten) getroffen werden. Alles im § 674 Gesagte hat auch hier Gültigkeit.

689. Will man aber verschiedene Teile der Haare und der Haarwurzelscheiden in verschiedenen Farben zur Darstellung bringen, so verwende man Karmalaun-Indigokarmin (siehe § 216), oder färbe nach Hämalaun mit Eosin, Orange und anderen Teerfarbstoffen nach.

Jodmethylviolett färbt besonders leicht die innere Haarwurzelscheide (Unna).

»Es gibt wohl kaum ein Körpergebilde, welches sich besser für die reiche Skala der Teerfarben eignet, wie Haar und Haarbalg« (Fr. Merkel, Ergebnisse B. I., S. 226, [92]).

690. Sensible Nervenendigungen der Haut. Wir beschränken uns auf die Darstellungsweise weniger sensibler Nervenendapparate: Meifsnersche, Herbstsche, Grandrysche, Vater-Pacinische Körper, Fibrillen und Telodendrien der Epidermis und die Tastscheiben. Diese Endapparate haben wir aus der grofsen Zahl der bereits bekannten herausgegriffen, weil sie leicht zugänglich sind und ohne besondere Schwierigkeiten zur Ansicht gebracht werden

Digitized by Google

können, und weil sie von allen Typen der sensiblen Nervenendigungen eine Vorstellung zu geben geeignet sind.

691. Die **Meifsnerschen Körperchen** sind an beliebig fixierten und tingierten Querschnitten durch die Papillen der Haut an denjenigen Stellen, wo sie zahlreich vorkommen, z. B. an der Volarfläche der Endglieder der Finger, ohne weiteres auf jedem Schnitt als quergestrichelte ovale Körper in denselben zu erkennen.

692. Eine alte Methode besteht in folgendem: Die Haut wird von der Endphalanx der Finger oder Zehe abpräpariert und einige (bis 10) Minuten gekocht. Das Wasser samt dem Hautstück läfst man kalt werden, dann nimmt man es heraus. Es läfst sich nun die Epidermis abziehen; auf dem Cutisstück sieht man mit der Lupe intakte Papillen, die man mit einem Rasiermesser abtragen kann. Diese Papillen werden auf einem Objektträger deponiert, mit einer etwa 3%igen wässerigen Eisessiglösung behandelt und mit einem Deckglase bedeckt. Nach einer Stunde bereits sieht man in vielen Papillen Meifsnersche Tastkörperchen als ovale quergestreifte Körper und zuweilen sogar den zutretenden Nerv.

693. Will man die Ausdehnung der Markscheide der zutretenden Nervenfaser kennen lernen, so behandle man ein kleines Hautstück mit Osmiumsäure (siehe § 38) und schneide senkrecht auf die Oberfläche der Haut, um die Papillen der Länge nach zu treffen.

694. Um die Beziehungen der Nervenfasern zum Meifsnerschen Körperchen zu eruieren, vergolde man die Hautstücke nach der im § 434 erwähnten Löwitschen Methode.

695. Die **Herbstschen** und die **Grandryschen Körperchen** kommen in der Wachshaut des Entenschnabels und in den Gaumenleisten desselben Vogels vor. Sie lassen sich als solche bei beliebiger Fixierung und Färbung erkennen.

Eine wahre Fundgrube der Herbstschen Körperchen ist die Zunge von Spechten (Dr. Ludwig Ferdinand, Prinz von Bayern, 84).

696. An mit Osmiumsäure behandelten Stücken sieht man den Nerv in Beziehung zu den Körperchen treten, soweit er markhaltig ist.

697. Will man die Nerven weiter verfolgen, so greife man zu einer von Carrière (82) empfohlenen Böhmschen Methode: Stücke einer frischen, mit dem Rasiermesser abgetragenen Wachshaut (mit Cutis bis zum Periost) des

Digitized by Google

Entenschnabels kommen in 50%ige Ameisensäure auf 20 Minuten; sie werden mit destilliertem Wasser flüchtig gewaschen und kommen auf ebensolange Zeit (20 Minuten) in eine geringe Menge einer 1%igen Goldchloridlösung. Die Stücke werden abermals einige Sekunden in destilliertem Wasser gewaschen, um in eine grofse Menge (etwa 300 ccm) Prichardscher Lösung übertragen zu werden; diese besteht aus Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, destilliertem Wasser 98); in dieser verbleiben die Stücke im Dunkeln 24—36 Stunden, werden mit Wasser abgespült, mit Alkohol gehärtet und geschnitten.

698. Die gröfsten und bekanntesten sensiblen Endapparate sind die **Vater-Pacinischen** Körperchen. Die Verbreitung derselben ist eine sehr grofse, wir erwähnen das Mesenterium der Katze als eine Fundgrube für solche; sie sind da mit blofsem Auge leicht wahrzunehmen.

699. Diese Körperchen lassen schon im frischen Zustande unter dem Mikroskop vieles erkennen. Man untersuche in physiologischer Kochsalzlösung.

700. Will man sich überzeugen, dafs die Lamellen aus Endothelzellen zusammengesetzt sind, so versilbere man die Körperchen nach § 265.

701. Nerven der Epidermis. Nach der Goldmethode (siehe § 434) oder nach der folgenden:

702. Stückchen der Haut werden mit einer $^1/_2$%igen Arsensäure angesäuert, sie kommen sodann $^1/_2$ Stunde in eine 1—2%ige Goldchloridlösung und werden schliefslich in eine 1%ige Arsensäure übertragen, wo die Reduktion erfolgt (Goldscheider, 86). (Objekt Tastballen.)

703. Tastscheiben vom Rüssel des Schweines. Methode von Löwit (siehe § 434), hierfür empfohlen von Bonnet (78).

704. Bonnet verfährt nach einer modifizierten Weigertschen Methode. Die Hautstücke werden in $^1/_3$%iger Chromsäure fixiert, geschnitten, mit Hämatoxylin überfärbt und mit alkoholischer Lösung von rotem Blutlaugensalz bis zur scharfen Differenzierung behandelt.

Haut etc. jüngerer Tiere behandle man auch nach Ramon y Cajal (siehe § 470).

Literatur zu Kapitel 17: Ledermann und Ratkowski (94), Joseph und Loewenbach (1900).

Digitized by Google

18. Kapitel.

Auge.

705. Der von Muskeln und lockerem Bindegewebe bis auf die Sclera befreite ganz frische **Augapfel** wird mit Müllerscher Flüssigkeit (siehe § 30) fixiert. Ein Augapfel von der Gröfse des menschlichen darf mindestens 3 Wochen darin belassen werden. Der Bulbus wird dann sorgfältig in fliefsendem Wasser ausgewaschen und in Spiritus von allmählich steigender Konzentration übergeführt. Ist ein Auge sehr klein, so kann man es ganz im Stück färben und schneiden.

706. Es ist von einer Paraffindurchtränkung hierbei abzuraten, da Sclera und namentlich die Linse in Paraffin viel zu hart werden. Man durchtränke daher mit Celloidin (siehe § 87 f.). Gröfsere fixierte Augen werden unter Spiritus mit einer scharfen Schere durch einen äquatorialen Schnitt eröffnet, der Glaskörper entfernt und Stücke aus verschiedenen Regionen, die alle Augenhäute enthalten, herausgeschnitten und weiter bearbeitet.

707. Flemmingsche, Merkelsche, Zenkersche Flüssigkeit und Salpetersäure (siehe § 58) können ebenfalls als Fixierungsmittel für das ganze Auge empfohlen werden.

708. Merkelsche (70) Flüssigkeit: Platinchlorid 1: Wasser 400, Chromsäure 1: Wasser 400 zu gleichen Teilen. Die Bulbi werden halbiert und 3—4 Tage eingelegt.

709. Schnitte, welche durch die ganze Dicke des Auges geführt sind, lassen eine allgemeine Orientierung über die Topographie der Augenhäute und deren Schichtung zu, sind aber nicht geeignet für das Studium feinerer Details, dafür sind speziellere Wege einzuschlagen.

710. **Corneae** kleinerer Tiere, frisch ausgeschnitten, können in indifferenten Flüssigkeiten oder in der Glaskörperflüssigkeit, die man durch Einstich einer fein ausgezogenen Kapillarröhre in den Augapfel gewinnt, vor Verdunstung geschützt, untersucht werden.

711. Das **vordere Epithel** wird an Schnitten, einer mit Müllerscher oder Flemmingscher Lösung behandelten Hornhaut entnommen, studiert. Als Macerations-Flüssigkeit verwende man $^1/_3$ Alkohol (siehe § 257).

712. Das **Descemetsche Endothel** kann durch **Versilberung** und nachträgliche Färbung zur Darstellung gebracht werden (siehe § 265).

Digitized by Google

713. Zur Untersuchung des Endothels der Cornea injiciert Nuel sofort, nachdem das Tier getötet ist (Kaninchen oder Vogel), in die vordere Augenkammer 1—2%ige Ameisensäure, nachdem vorher Humor aqueus abgeflossen ist. Dann wird das Auge enukleiert und 3—5 Minuten in 1%ige Osmiumsäure gelegt. Dann kann man die Cornea ausschneiden und sofort oder nach Karminfärbung untersuchen, Nuel et Cornil (90).

714. Die Grundsubstanz der Hornhaut läfst sich nach Maceration in Kalkwasser z. B. (auch übermangansaures Kalium) in Lamellen und Fibrillen zerlegen (Rollett, 72).

715. Die **Hornhautkörperchen** können in vielfacher Weise untersucht werden. Es wird mit einem Lapisstift die vom vorderen Epithel befreite Hornhaut am lebenden Tiere (Frosch) geätzt. Schneidet man alsdann die Cornea aus und überträgt dieselbe in Wasser, so erscheinen alsbald die Hornhautkörperchen mit Ausläufern hell auf dunkelm Grunde: negative Versilberung (Ranvier, 81).

716. Die dickeren Hornhäute gröfserer Tiere werden ebenso behandelt, müssen jedoch an Flachschnitten, die man mit der Hand anfertigt, studiert werden. Läfst man solche mit Höllenstein behandelte Hornhäute ein paar Tage im Wasser liegen, so entfärbt sich die Grundsubstanz, und die Hornhautkörperchen werden dunkel: positive Bilder (Ranvier, 81).

717. Leber (68) behandelt die Cornea eines Frosches einige Minuten mit einer $^1/_2$—1%igen Lösung eines Eisenoxydsalzes; die Hornhaut wird auf einen Augenblick in destilliertes Wasser eingetaucht und kommt sofort in eine 1%ige Lösung von Ferridcyankalium. Nach einigen Minuten sind die Hornhautkörperchen, zuweilen in der ganzen Dicke der Cornea, mit ihren Ausläufern gefärbt.

718. Die Hornhautkörperchen können aber auch durch Vergoldung dargestellt werden, wobei die **Nerven der Cornea** ebenfalls gefärbt werden (siehe § 719).

719. Speziell für die Hornhaut empfiehlt Ranvier (89) Goldchloridkalium in einer 1%igen Lösung.

Eine Froschhornhaut kommt auf fünf Minuten in Citronensaft (siehe § 436), dann auf $^1/_4$ Stunde in die eben erwähnte Goldlösung; reduziert wird im Lichte in schwach mit Essigsäure (2 Tropfen auf 30 ccm) angesäuertem Wasser 1—2 Tage.

720. Hornhautkörperchen mit Ausläufern (deren Ausgüsse) können auch nach der Altmannschen Methode (siehe § 507) dargestellt werden.

Siehe auch Ranvier (81).

Digitized by Google

721. Die **Sclera** wird nach den Methoden, die für Bindegewebe (§ 317 ff.) angegeben worden sind, behandelt.

722. Die **Vasculosa** und **Iris** werden am bequemsten an albinotischen Kaninchen studiert. Man unterlasse nicht, die Iris an sehr gut orientierten Objekten flach zu schneiden.

723. Die Lymphgefäfse der Chorioidea können mit der Altmannschen Methode zur Anschauung gebracht werden (siehe § 506 und bei Altmann [79], S. 500 ff.).

724. An fixierten pigmentierten Augen kann man auf Kosten der guten Konservierung das Pigment mit Wasserstoffhyperoxyd entfernen.

Mit diesem Mittel kann man nach Unna vielfaches erzielen. Es bleicht alle Pigmente, entfärbt Chromsäure und Osmiumsäurepräparate, sowie auch mit Hämatoxylin überfärbte; gegen Gold- und Silberniederschläge ist es unwirksam, reduziert aber frische Goldchloridpräparate augenblicklich und vollständig; schwache und starke Lösungen wirken, abgesehen vom Zeitunterschied, gleich.

Zu ähnlichen Resultaten ist Solger (83) gekommen. (Duval [78] hat im Jahre 1878 eine ähnliche Bleichmethode als eine alte, von Pouchet angegebene, erwähnt.)

725. Man kann das Bleichen der Pigmente (und zu dunkel gewordener Osmiumsäurepräparate) mit nascierendem Chlor (P. Mayer, 81) bewerkstelligen. Die zu bleichenden Objekte kommen in ein mit Alkohol gefülltes Gefäfs, auf dessen Boden Krystalle von Kalium chloricum deponiert werden. Es wird nun Salzsäure (bis 1 %) zugefügt und das Gefäfs verschlossen.

726. Die **Linse** erwachsener Tiere läfst sich, es mag die Vorbehandlung sein, welche sie wolle, schlecht schneiden, eher in Celloidin, in Paraffin nur dann, wenn man nach jedem Schnitte die Schnittfläche des Paraffinblocks mit heifsem Paraffin vermittelst eines weichen Pinsels rasch bestreicht. Die Linsen älterer Tiere müssen vor dem Schneiden ausgebohrt, d. h. es mufs der sog. Kern entfernt werden. Diese Methode ist für harte und brüchige Objekte überhaupt zu empfehlen. (C. Rabl, 94 und 1900.)

727. An mit starker Salpetersäure (bis 30 %) macerierten Linsen lassen sich leicht die Linsenfasern isolieren.

728. Isolation der Linsenfasern mit $^1/_3$ Alkohol. Frische Linsen werden 2 Stunden eingelegt, dann wird die Linsenkapsel durch Anstechen eröffnet, es verbleiben die Linsen noch 24 Stunden in $^1/_3$ Alkohol; es

Digitized by Google

wird nun auf dem Objektträger in Glycerin gezupft und nach Pikrokarminzusatz eingelegt und umrandet. Man studiere die verschiedenen Formen der Linsenfasern vor allem beim Fisch und Säugetier.

729. **Retinae** gröfserer Tiere sind an in toto behandelten Augen in der Regel mangelhaft fixiert, weil sie sich verändern, ehe die fixierende Flüssigkeit durch die Sclera gedrungen ist. In solchen Fällen mufs die Retina nebst Chorioidea unter Kochsalz rasch nach den bekannten Regeln isoliert und dann fixiert werden, oder das Auge wird durch einen Schnitt (äquatorialen) halbiert und nach Entfernung des Glaskörpers mit fixierender Flüssigkeit behandelt.

730. Als solche sind zu empfehlen: Müllersche Flüssigkeit (1—2 Wochen lang), Salpetersäure von 3% (24 Stunden auswaschen und dann 70%iger Spiritus), Flemmingsche Flüssigkeit und vor allem die Osmiumsäure.

731. Diese wird nach Ranvier (89) folgendermafsen angewandt: Augen kleinerer Tiere: Maus, Triton, Frosch etc. werden herausgenommen, vorsichtig (ohne auf den Bulbus zu drücken) mit Schere von Muskeln etc. befreit und mit Osmiumsäuredämpfen $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde geräuchert (siehe § 39). (Gröfsere Bulbi müssen vor der Räucherung eröffnet und der Glaskörper und Retina von innen geräuchert werden.) Nach der Räucherung ist die Retina genügend fixiert, und man kann das Auge unter $^1/_3$ Alkohol durch einen äquatorialen Schnitt eröffnen und in diesem einige (3—4) Stunden belassen. Die hintere Augenhälfte (mit dem Nerven) wird mit Pikrokarmin einige Stunden gefärbt und aus diesem in 1%ige Osmiumsäurelösung auf 12 Stunden übertragen, worin die definitive Fixierung der Elemente erfolgt. Es wird mit Wasser gewaschen, mit Alkohol behandelt und in Paraffin geschnitten.

732. Ist die Sclera zu hart, so kann man sie mit scharfem Messer an mit Paraffin durchtränkten Stücken nach Bedarf entfernen.

733. Beim Studium der Retina begnüge man sich nie mit Querschnitten, sondern fertige auch gut orientierte Flachschnitte an. Mit Recht weist W. Krause auf diesen Umstand hin und bemerkt, dafs man an Querschnitten über den Bau der Zwischenkörnerschicht beispielsweise unmöglich zu einer richtigen Vorstellung gelangen kann.

Digitized by Google

734. Als weiteres Fixierungsmittel, das sehr gut die Aufsenglieder konserviert, aber auch bei der Isolation der Stützfasern Gutes leistet, ist die 10 %ige Chloralhydratlösung anzuführen (Krause, 84).

[**735.** Die Retinae lassen sich im allgemeinen gut färben, und die Mehrfachfärbungen liefern (aufser nach Osmiumsäurebehandlung) farbenreiche Bilder, welche für Demonstrationszwecke z. B. unter Umständen Nutzen bringen.

736. Die nervösen Elemente der Retina färbt Dogiel mit der Methylenblaumethode Ehrlichs, indem Methylenblau in das Gefäfssystem eines lebenden oder eben getöteten Tieres eingeführt, oder die Retina direkt auf dem Objektträger mit dem Farbstoffe behandelt wird. Um Schnitte anzufertigen, wird die so behandelte Netzhaut mit einem Gemisch von pikrinsaurem Ammoniak und Chromsäure resp. Alkohol fixiert und gehärtet (siehe § 477 ff.).

737. Wenn man den Glaskörper entfernt und die Innenfläche der Retina versilbert, so erhält man deutliche Silberbilder von den Grenzen der Füfschen der Müllerschen Fasern.

Für die Retina empfiehlt Ramon y Cajal (94a) folgendes, nach Golgi modifiziertes Verfahren:

1. Eintauchen der hinteren Bulbushälfte nach Entfernung des Glaskörpers in

Kaliumbichromat 3 % — 20 ccm
Osmiumsäure 1 % — 5—6 ccm

auf 1—2 Tage.

2. Man trocknet dann die Stücke vorsichtig mit Fliefspapier und überträgt sie in $^3/_4$ % Höllensteinlösung auf 24 Stunden.

3. Ohne vorheriges Abwaschen kommen die Stücke in die erste Osmiumbichromatlösung. Letztere mufs etwas weniger Osmiumsäure enthalten (auf 20 ccm Kaliumbichromat von 3 % etwa nur 2—3 ccm der 1 %igen Osmiumsäure). 24—36 Stunden.

4. Abermaliges Einlegen in $^3/_4$ % Höllensteinlösung auf mindestens einen Tag.

Um Niederschläge auf ein Minimum zu reduzieren, empfiehlt es sich, die abgelösten Retinae vor der Behandlung aufzurollen. Um das Wiederaufrollen zu verhüten, übergiefst man die Rolle mit Collodium oder dünnem Celloidin.

Digitized by Google

738. Galle wirkt eigentümlich lösend auf die Aufsenglieder der Stäbchen und Zapfen (Kühne, Dreser, 86).

Weitere Literatur zu Kapitel 18: Greef (98), Seligmann (99).

19. Kapitel.

Ohr.

739. Bei der Behandlung der schallperzipierenden Organe gebricht es beim Anfänger in der Regel an der genauen Kenntnis der Lage derselben innerhalb des Felsenbeins bei den verschiedenen Tieren. Man fange deshalb lieber mit Objekten an, die, ohne genauer makroskopisch zergliedert zu werden, eine Behandlung mit dem (von Weichteilen befreiten) Felsenbeine zulassen.

Die Cochlea erzeugt bei Nagern scharf gezeichnete Vorsprünge im Cavum Tympani, und es ist die Möglichkeit des genauen Orientierens vor dem Schneiden dadurch gegeben. Bei gröfseren Nagern kann man vor oder nach dem Fixieren die Schnecke abmeifseln, resp. abzwicken und erst dann weiter behandeln.

740. Solche Felsenbeine werden in Müllerscher Flüssigkeit, in Flemmingscher Lösung fixiert und dann eventuell entkalkt.

741. Als Entkalkungsflüssigkeit ist die schweflige Säure, für sehr kleine Schnecken (wie die des Meerschweinchens) auch eine 3 %ige Salpetersäure und gesättigte Pikrinsäurelösung anderen vorzuziehen. Schnecken gröfserer Tiere müssen unter der fixierenden Flüssigkeit eröffnet und dann entkalkt werden. Geschnitten wird in Celloidin oder Photoxylin. (Letzteres, da durchsichtig, erleichtert die Orientierung.)

742. Die Schnecke wird, nach Retzius (84) eröffnet, eine halbe Stunde mit einer $^1/_2$ %igen Überosmiumsäurelösung fixiert, darauf ebensolange Zeit mit $^1/_2$ %iger Goldchloridlösung. Es wird nicht weiter entkalkt, sondern das Cortische Organ herauspräpariert und untersucht oder nach Entfernung von Knochen geschnitten.

743. Nach Ranvier (89) eröffnet man die Schnecke mit einem Skalpell unter einem Osmiumsäuregemisch (2 % gelöst in physiologischer Kochsalzlösung). Man lasse alsdann dasselbe zwölf Stunden einwirken und entkalke mit einer 2 %igen, oft zu wechselnden Chromsäure. Die Entkalkung für Meerschweinchen dauert eine ganze Woche.

Digitized by Google

744. Das Cortische Organ kann nach § 750 behandelt werden ($^1/_3$ Alkohol, dann Überosmiumsäure, resp. deren Dämpfe), (siehe § 39).

745. Labyrinth des erwachsenen Menschen. Wir führen hier zwei Beispiele an, die sehr befriedigende Resultate, auch was die Erhaltung des Sinnesepithels betrifft, ergaben (A. Scheibe).

Die Felsenbeinpyramide wird nach den üblichen Regeln abgetrennt, die Schnecke und der obere Bogengang eröffnet. Man lasse die Müllersche Flüssigkeit 3 Wochen lang einwirken, wechsle diese in der ersten Woche alle Tage einmal, dann alle zwei Tage. Es wird alsdann 24 Stunden mit fliefsendem Wasser gewaschen, in 80 %igen Alkohol auf 14 Tage, in 96 %igen auf ein paar Tage und in die Entkalkungsflüssigkeit — 5 %ige Salpetersäure, welche täglich zu wechseln ist (§ 358) — auf 10—15 Tage übertragen. Es wird nun 2 Tage lang in fliefsendem Wasserleitungswasser gewaschen und in 80 %igen Spiritus auf 24 Stunden, dann in 96 %igen übertragen; im Spiritus letzterer Konzentration verbleiben die Stücke 6—8 Tage und werden mit Celloidin durchtränkt (siehe § 87 f.) und geschnitten.

746. Auch folgende Methode hat befriedigende Resultate ergeben: Die abgetrennte Pyramide mit eröffneter Schnecke und eröffnetem oberen Bogengang wird 2 Tage lang mit Müllerscher Flüssigkeit bei Zimmertemperatur behandelt, kommt alsdann in derselben oft zu wechselnden Flüssigkeit auf 3 Wochen in einen Thermostaten (33° C.), wird 48 Stunden in fliefsendem Wasser gewaschen, wird in 80 %igen Spiritus auf 14 Tage, aus diesem in 96 %igen auf 8 Tage übertragen, entkalkt u. s. w. wie in § 745 und dann mit Celloidin durchtränkt und geschnitten (siehe § 87 f.).

Weitere Literatur für Kapitel 19: Politzer A. (89).

20. Kapitel.

Nase.

747. Um Orientierungspräparate von der Nasenschleimhaut zu erlangen, mufs man von z. B. in Flemmingscher Lösung fixierten, natürlich der regio respiratoria sowohl, als der regio olfactoria entnommenen Stücken Querschnitte anfertigen. Es empfiehlt sich, Schleimhautstücke der letztgenannten Region in reiner Osmiumsäure (1 % siehe § 38)

Digitized by Google

zu fixieren, da die Olfactoriusfasern und Fibrillen, im Gegensatz zu den Remakschen Fasern (siehe § 428), sich mit Osmiumsäure bräunen.

748. Epithelien der regio respiratoria werden mit $^1/_3$ Alkohol (siehe § 257) isoliert.

749. Epithelien der regio olfactoria lassen sich ebenfalls in $^1/_3$ Alkohol macerieren, die isolierten Sinneszellen aber, die sehr lang sind, verkrümmen sich und werden sonst vielfach verändert.

750. Um diesen Mifsständen aus dem Wege zu gehen, empfiehlt Ranvier ein ebenso einfaches als vorzügliches Mittel. Epithelfetzen werden 1—2 Stunden mit $^1/_3$ Alkohol maceriert, dann fünf Minuten bis eine Viertelstunde mit Osmiumsäure behandelt. Jetzt kann im Wasser gezupft werden, die Zellen behalten ihre Form und können in Glycerin eingeschlossen werden.

751. Die Methode von Golgi, auf die Schleimhaut der Nase jugendlicher Tiere und der Föten angewendet, hat hier zur Erkenntnis der bedeutungsvollen Thatsache geführt, dafs die Riechzellen der regio olfactoria peripher gelegene Ganglienzellen sind (Ramon y Cajal, 94 b).

Digitized by Google

Literatur-Verzeichnis.*)

Abbe, E., **78.** Über Blutkörper-Zählung. Sitzungsber. d. Jen. Ges. f. Med. u. Naturw.

Afanassiew, M., **84.** Über den dritten Formbestandteil des Blutes im normalen und pathologischen Zustand etc. Arb. Med.-Klin. Inst. Univers. München. Bd. 1, 2. Heft, p. 556—592, T. 15.

Altmann, R., **79.** Über die Verwertbarkeit der Korrosion in der mikroskopischen Anatomie. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd., p. 471—507, T. 21—23.

—, **92.** Ein Beitrag zur Granulalehre. Verh. Anat. Ges. 6. Vers. p. 220—223.

—, **94.** Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. p. 1—160, 9 Fig. und 35 T. 2. Aufl. Leipzig.

Apathy, S., **87.** Methode für Verfertigung längerer Schnittserien mit Celloidin. Mitteilg. aus d. Zool. Station zu Neapel. 7. Bd.

—, **88.** Nachträge zur Celloidintechnik. Zeitschrift f. wiss. Mikrosk. Bd. 5.

—, **89.** Mikrotechnische Mitteilungen. Zeitschrift f. wiss. Mikrosk. 6. Bd.

—, **96.** Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie, 1. Abteilung. Braunschweig.

Ambronn, H., **92.** Anleitung zur Benutzung des Polarisations-Mikroskops bei histologischen Untersuchungen. Leipzig.

*) Enthält die im Texte citierten Arbeiten; bei mehreren Arbeiten ein und desselben Autors entscheidet die beigesetzte Jahreszahl, eventuell bei mehreren Arbeiten aus einem Jahr a, b etc. — Wir haben weniger Wert darauf gelegt, diejenigen Arbeiten zu citieren, durch welche neue Methoden zuerst eingeführt wurden, vielmehr beabsichtigen wir, ein Nachschlagen zu weiterer Information zu ermöglichen.

Digitized by Google

Argutinsky, P., **1900.** Eine einfache und zuverlässige Methode, Celloidinserien mit Wasser und Eiweifs aufzukleben. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 55, p. 415—419.

Arnstein, C., **87.** Die Methylenblaufärbung als histologische Methode. Anat. Anz. Bd. 2.

Azoulay, L., **94.** Coloration de la myéline des tissus nerveux et de la graisse par l'acide osmique et le tanin ou ses analogues. Anat. Anz. Bd. 10, p. 25—28.

Ballowitz, E., **88.** Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 32.

Barfurth, D., **91.** Über Zellbrücken glatter Muskelfasern. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.

—, **93.** Die experimentelle Untersuchung über die Regeneration der Keimblätter bei den Amphibien. Anatomische Hefte 1. Abt., H. 9. (3. Bd., H. 2.)

Barlow, R., **95.** Mitteilungen über Reduktion der Überosmiumsäure durch das Pigment der menschlichen Haut. D II Heft 5. Bibliotheca medica. Abt. D II.

Bayerischer Königskalender, **83.** Gebr. Reichel in Augsburg,

Behrens, F., **98.** Die Herstellung gefärbter Leberpräparate. Zeitschrift f. angewandte Mikroskopie. 3. Bd., p. 76—77.

—, W., **Kossel**, A., **Schiefferdecker**, P., **89.** Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Braunschweig. H. Bruhn.

Benda, C. **87a.** Ein interessantes Strukturverhältnis der Mäuseniere. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **87b.** Untersuchungen über den Bau des funktionierenden Samenkanälchens einiger Säugetiere und Folgerungen für die Spermatogenese dieser Wirbeltierklasse. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30.

Berkley, H. J., **93.** Studies in the Histology of the Liver. Anat. Anz., 8. Jahrg., p. 769—792. 22 Fig.

Bethe, A., **95.** Angaben über ein neues Verfahren der Methylenblaufixation. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 44.

—, **96.** Eine neue Methode der Methylenblaufixation. Anat. Anz. Bd. 12, p. 438—446.

Biedermann, W., **98.** Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 72, p. 105—162.

Blochmann, F., **84.** Über Einbettungsmethoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 1.

—, **89.** Eine einfache Methode zur Entfernung der Gallerte und Eischale bei Froscheiern. Zool. Anz.

Blum, F., **93.** Der Formaldehyd als Härtungsmittel. (Vorl. Mitt.) Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. X.

—, **96.** Über Wesen und Wert der Formolhärtung. Anat. Anz. Bd. 11.

Böhm, A. A., **91.** Die Befruchtung des Forelleneies. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. und Physiol. zu München.

Digitized by Google

Böhm, A. A., und **v. Davidoff**, M., **95** und **98**. Lehrbuch der Histologie des Menschen einschliefslich der mikroskopischen Technik. 246 Abbild. XV, 404 pp. Wiesbaden 1895; 2. Aufl. 251 Abbild. XIV, 411 pp. Wiesbaden 1898.

Böhmer, F., **65**. Zur pathologischen Anatomie der Meningitis cerebromedullaris epidemica. Ärztl. Intelligenzbl. f. Bayern. 12. Jahrg.

Bonnet, R., **78**. Studien über die Innervation der Haarbälge der Haustiere. Morph. Jahrb. Bd. 4, p. 329—398, T. 17—19.

Born, G., **83**. Die Plattenmodelliermethode. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 22.

—, **88**. Noch einmal die Plattenmodelliermethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

—, **93**. Ein neuer Schnittstrecker. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.

Born, G. und **Peter**, K., **98**. Zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XV.

Boveri, Th., **87**. Zellen-Studien. Heft 1, Jena.

Braus, H., **96**. Untersuchungen zur vergleichenden Histologie der Leber der Wirbeltiere. Semons Zool. Forschungsreisen. Bd. 2.

Bremer, L., **82**. Über die Endigungen der markhaltigen und marklosen Nerven im quergestreiften Muskel. Arch. f. mikr. Anat Bd. 21.

Bütschli, O., **92**. Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. 234 p., 23 Fig., 6 Taf. Atlas von 19 Mikrophotographien. Leipzig.

Cajal Ramon y, S., **94a**. Die Retina der Wirbeltiere. Untersuchungen mit der Golgi-Cajalschen Chromsilbermethode und der Ehrlichschen Methylenblaufärbung. Übersetzt von R. Greeff. Wiesbaden.

—, **94b**. Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertébrés. Paris.

Carrière, J., **82**. Kurze Mitteilungen zur Kenntnis der Herbstschen und Grandryschen Körperchen in dem Schnabel der Ente. Arch. Mikr. Anatomie. 21. Bd., p. 146—164, T. 6.

Chrzonszczewsky, N, **64**. Zur Anatomie der Niere. Virchows Arch. Bd. 31.

—, **66**. Zur Anat. u. Physiol d. Leber. Virchows Arch. Bd. 35.

Cohnheim, **67a**. Über die Endigungen der sensiblen Nerven in der Hornhaut. Virchows Arch. Bd. 34, p. 606—622, T. 14.

—, J., **67b**. Über Entzündung und Eiterung. Virchows Arch. Bd. 40, p. 1—79.

Cohnstein, W., **96**. Physiol. Permeabilität tierischer Membranen. Aus: Naturw. Rundschau. Jahrg. XI, Nr. 42. 17./10. 1896.

Corning, H. K., **1900**. Über die Methode von P. Kronthal zur Färbung des Nervensystems. Anat. Anz. 17. Bd., p. 108—111.

Cox, W. H., **90**. Impraegnatie van het centrale zenuwstelsel met Kwikzouten. Nederlandsch Tijdschrift for Geneeskunde. D. 12.

—, **91**. Imprägnation des centralen Nervensystems mit Quecksilbersalzen. Arch. Mikr. Anat. 37. Bd., p. 16—21, T. 2.

Digitized by Google

Cox, W., H., **98.** Der feinere Bau der Spinalganglienzelle des Kaninchens. Anat. Hefte. 31. Heft, p. 73—104. Taf. 1—6.

Czapski, S., **93.** Theorie der optischen Instrumente nach Abbé. Breslau, E. Trewendt.

Czokor, J., **80.** Die Cochenille-Karminlösung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 18.

Daddi, L., **96.** Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus. Arch. ital. Biol. 26. Bd., p. 142—146.

Dejerine, J., **95.** Anatomie des Centres nerveux. Tome I. Paris.

Dippel, L., **82.** und **98.** Das Mikroskop und seine Anwendung, I. Teil. Handb. d. allgemeinen Mikroskopie. 2. Aufl. Braunschweig, 1882; II. Teil, 2. Aufl. 1898.

Dogiel, A. S., **90.** Methylenblautinktion der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Amphibien und Reptilien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 35.

Dreser, 86. Zur Chemie der Netzhautstäbchen. Zeitschrift für Biologie Bd. 22.

Duval, M., **78.** Précis de technique microscopique et histologique. Paris.

Eberth, C. J., **71/72.** Die Nebennieren. In Strickers: Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.

Ebner, V. v., **75.** Über den feineren Bau der Knochensubstanz. Sitz.-Ber. Akad. Wien. Bd. 72, 3. Abt., p. 1—90, T 1—4.

—, **91.** Histologie der Zähne mit Einschlufs der Histogenese. In: Handb. d. Zahnheilkunde von J. Scheff jr., 1. Bd. Wien.

Ehrlich, P., **76.** Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch. f. mikr. Anatomie, 13. Bd.

—, **85.** Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin.

—, **91.** Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. I. Teil. (Enthält gesammelte Abhandlungen von ihm und Arbeiten seiner Schüler Westphal, Spilling, Schwarze.)

Engel, C. S., **98.** Leitfaden zur Untersuchung des Blutes. Berlin.

Ewald, A., **97.** Beiträge zur histologischen Technik. Zeitschr. für Biologie. Jubelband für Kühne 1896. N. F. 16. Bd. der ganzen Reihe 34. Bd., p. 246—267 (auf Seite 254 dieser Arbeit lies Dr. Mays statt Dr. Mags).

Ewald, A., und **Kühne,** W., **74.** Die Verdauung als histologische Methode. Verh. Naturhist. Ver. Heidelberg (N. F.), Bd. 1, p. 451—456.

Fick, R., **93a.** Über Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Verhandl. d. Anat. Gesellsch.

—, **93b.** Über die Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Zeitschr. f. wiss. Zoologie Bd. 56.

Fischer, A., **93.** Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula. Anat. Anz. 9. Bd.

Digitized by Google

Fischer, A., **99.** Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena, G. Fischer.

Fischer, E., **75.** Eosin als Tinktionsmittel für mikroskopische Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 12.

—, **76.** Über die Endigungen der Nerven im quergestreiften Muskel der Wirbeltiere. Arch. f. mikr Anat. Bd. 13.

Flechsig, P., **76.** Die Leitungsbahnen im Gehirn und Rückenmark des Menschen. Leipzig.

Fleischl, E., **74.** Über die Beschaffenheit d. Axencylinders. Beiträge Anat. Phys. Festgabe f. Karl Ludwig, p. 51—55. 1 Taf. Leipzig.

Flemming, W., **82.** Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. p. VIII und 1—424. 24 Fig. und 8 Taf. Leipzig.

—, **86.** Surrogate für Knochenschliffe. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.

—, **89a.** Über die Löslichkeit osmierten Fettes und Myelins in Terpentinöl. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, 6. Bd., p. 39—40.

—, **89b.** Weiteres über die Entfärbung osmierten Fettes in Terpentin und anderen Substanzen. Ibidem, p. 178—181.

—, **91a.** Über Teilung und Kernformen bei Leukocyten und über deren Attraktionssphären. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXVII, p. 249—298.

—, **91b.** Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Archiv f. mikr. Anatomie Bd. XXXVII, p. 685—751.

—, **95a.** Über die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne. Arch. f, mikr. Anat. Bd. 45.

—, **95b.** Über den Bau der Spinalganglien bei Säugetieren, und Bemerkungen über den der centralen Zellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.

Flesch, M., **80.** Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels, p. 1—102, 5 T. Würzburg.

Fol, H., **84** und **96.** Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie mit Einschluſs der vergleichenden Histologie und Histogenie. p. 1—452, 220 Fig. Leipzig.

Foster und **Balfour**, übersetzt von **Kleinenberg**, N., **76.** Grundzüge der Entwickelungsgeschichte der Tiere, p. XX und 1—267, 71. Fig. Leipzig.

Franke, Ad., **81.** Die Reptilien und Amphibien Deutschlands. Leipzig.

Frey, H., **68.** Die Hämatoxylinfärbung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 4.

Friedländer, **82.** Mikroskopische Technik. Berlin.

Frommann, C., **64a.** Über Färbung der Binde- und Nervensubstanz des Rückenmarkes durch arg. nitr. und über die Struktur der Nervenzellen. Virchows Arch. Bd. 31.

—, **64b.** Zur Silberfärbung d. Axencylinder. Virchows Arch. Bd. 31.

Froriep, A., **78.** Über das Sarcolemm und die Muskelkerne. Arch. f. Anat. und Physiol. Anat. Abt.

Digitized by Google

Gad, J. (Methode von Chr. Sihler), **95.** Über eine leichte und sichere Methode, die Nervenendigung an Muskelfasern und Gefäfsen nachzuweisen. Verhandl. der Berliner Physiol. Gesellsch. in: Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abt.

Gasser, 78. Der Primitivstreif bei Vogelembryonen. Cassel.

Gaule, 81. Das Flimmerepithel der Aricia foetida. Arch. f. Anat. und Physiol, Physiol. Abt. p. 153—159, 1 Taf.

Gerlach, J., **58.** Mikroskopische Studien aus dem Gebiete der menschlichen Morphologie. p. VI und 1—72, 8 Taf. Erlangen.

—, **71, 72.** Von dem Rückenmark. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben p. 665—693, Fig. 217—229. Leipzig.

Gierke, H., **84, 85.** Färberei zu mikroskopischen Zwecken. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 1 und 2.

Giesbrecht, W., **81.** Zur Schneide-Technik. Zool. Anz. 4 Jahrg.

Goldscheider, 86. Demonstration von Präparaten, betreffend die Endigung der Temperatur- und Drucknerven in der menschlichen Haut. Verhandl. der Physiol. Ges. zu Berlin, 1885. Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abt.

Golgi, C., **94.** Untersuchungen über den feineren Bau des centralen und peripherischen Nervensystems. p. 1—272, 30 Taf. Deutsch von R. Teuscher, Jena. (Enthält sämtliche Untersuchungen Golgis über das obige Thema seit 1871.)

Grawitz, E., **99.** Methodik d. klinisch. Blut-Untersuchungen. Berlin.

Greef, R., **98.** Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung des Auges.

Grenacher, A., **79.** Einige Notizen zur Tinktionstechnik, besonders zur Kernfärbung. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd., p. 463—471.

Gscheidlen, R, **76.** Physiologische Methodik. Braunschweig.

Gulland, G. Lovell, **91.** A simple method of fixing paraffin sections to the slide. Journ. of anat. and physiol. Vol. XXVI, p. 56—59.

Häcker, V., **99.** Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre 137 Abb. 260 p. G. Fischer, Jena.

Hällstén, 86. Ein Compressorium für mikroskopische Zwecke. Zeitschr. f. Biologie Bd. 22.

Halliburton, W. D., **95.** Lehrbuch der chemischen Physiologie und Pathologie. Deutsch von K. Kaiser. 2. Aufl. Heidelberg.

Hammer, Bernh., **91.** Über das Verhalten von Kernteilungsfiguren in der menschlichen Leiche. Dissert. Berlin. 39 p.

Hannover, 40. Die Chromsäure, ein vorzügliches Mittel bei mikroskopischen Untersuchungen. Joh. Müllers Archiv.

Hansen, Fr. C. C., **95.** Eine schnelle Methode zur Herstellung des Böhmerschen Hämatoxylins. Zool. Anz. Nr. 473.

—, **98a.** Eine zuverlässige Bindegewebsfärbung. Anat. Anz. 15. B., p. 151—153.

—, **98b.** Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. Anat. Anz. Bd. 16, p. 417—438.

Haug, R., **91a.** Die gebräuchlichsten Entkalkungsmethoden. Eine technisch-histologische Studie. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.

Digitized by Google

Haug, R., **91 b.** Über eine neue Modifikation der Phloroglucin-Entkalkungsmethode. Centralblatt f. allg. Path. und path. Anat. Bd. 2.

Heidenhain, M., **92.** Über Kern und Protoplasma. Festschr. f. Kölliker. Leipzig. p. 109—166, Taf. 9—11.

—, **94.** Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellprotoplasma. Archiv. f. mikr. Anat. 43. Bd., p. 423—758, T. 25—31.

—, **96.** Noch einmal über die Darstellung der Centralkörper durch Eisenhämatoxylin nebst einigen allgemeinen Bemerkungen über die Hämatoxylinfarben. Zeitschr. f. wiss. Mikr. B. 13., p. 186—199.

Heidenhain, R., **70.** Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 6, p. 368—406, 2 Taf.

—, **80.** Physiologie der Absonderungsvorgänge. Handbuch der Physiol. von L. Hermann Bd. V, p. 1—420.

—, **86.** Eine Abänderung der Färbung mit Hämatoxylin und chromsauren Salzen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 27.

—, **88.** Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Arch. f. d. ges. Physiol. Pflüger. 43. Bd. Suppl.

Henle, J., **71.** Handbuch der systematischen Anat. des Menschen. Bd. 3, Abt. 2 (Vorrede).

Hensen, V., **76.** Beobachtungen über die Befruchtung und Entwicklung des Kaninchens und Meerschweinchens. Zeitschr. f. Anat. und Entw. Bd. 1, p. 213 und 353.

Hermann, F., **93.** Technik. Methoden zum Studium des Archiplasmas und der Centrosomen tierischer und pflanzlicher Zellen. Ergeb. d. Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 2, Abt. 2.

Hertwig, O., **83.** Die Entwickelung des mittleren Keimblattes der Wirbeltiere. Jena.

His, W., **61.** Untersuchungen über den Bau der Lymphdrüsen. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 11 Bd., 24 p., Taf. 8, 9.

—, **68.** Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. Leipzig.

—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion und über deren Bedeutung für Anat. und Entwicklungsgesch. Anat. Anz. 2. Jahrg.

Hoehl, E., **97.** Zur Histologie des adenoiden Gewebes mit 2 Taf. Arch. f. Anat. und Physiol., Anat. Abt. 1897. p. 133—152.

Holmgren, E., **99.** Weitere Mitteilungen über den Bau der Nervenzellen. Anat. Anz. Bd. 16, p. 388—397.

Holmgren, F., **74.** Methode zur Beobachtung des Kreislaufs in der Froschlunge. Beiträge zur Anat. und Physiol. Festgabe für Ludwig. Leipzig.

Hoppe-Seyler, F., und **Thierfelder**, H., **93.** Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 6. Auflage. Berlin.

Hoyer, H., **90.** Über den Nachweis des Mucins in Geweben mittels d. Färbemethode. Arch. Mikr. Anat. 36. Bd., p. 310—374.

Digitized by Google

Joseph, M., und **Loewenbach**, G., **1900.** Dermato-histologische Technik. Berlin.

Kaes, Th., **91.** Die Anwendung der Woltersschen Methode auf die feinen Fasern der Hirnrinde. Neurologisches Centralblatt.

v. Kahlden, 95 und **98.** Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate. 4. Aufl. 1895 und 5. Aufl. 1898. Jena, G. Fischer.

Kaiserling, C., und **Germer**, R., **93.** Über den Einflufs der gebräuchlichen Konservierungs- und Fixationsmethoden auf die Gröfsenverhältnisse tierischer Zellen. Virchows Arch. Bd. 133, p. 79—104.

Kallius, E., **92.** Ein einfaches Verfahren, um Golgische Präparate für die Dauer zu fixieren. Anat. Hefte 1. Abt., 5. Heft, p. 271—275.

Kann, H., **89.** Über das Epithel des Ureters. Inaug.-Diss. München. 26 p., 1 Taf.

Kastschenko, N., **86.** Methode zur genaueren Rekonstruktion kleinerer makroskopischer Gegenstände. Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt.

—, **87.** Die graphische Isolierung. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **88.** Über das Beschneiden mikroskopischer Objekte. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

Key, A., und **Retzius**, G., **82.** Über die Anwendung der Gefrierungsmethode in der histologischen Technik. Biologische Untersuchungen, herausg. von G. Retzius.

S. auch: Om trysningsmetodens användande vid histologisk teknik. Nordisk Medicinsk Arkiv Bd. 6, 1874.

Klaatsch, H., **87.** Zur Färbung von Ossifikationspräparaten. Zeitschr. f. wiss Mikr. Bd. 4.

Koch, G. v., **78.** Über die Herstellung dünner Schliffe von solchen Objekten, welche aus Teilen von sehr verschiedener Konsistenz zusammengesetzt sind. Zool. Anz. 1. Jahrg. p. 36 bis 37.

Kockel, 99. Eine neue Methode der Fibrinfärbung. Centralbl. f. Allg. und Pathol. Anat. X. Bd., p. 749—757.

Kölliker, A., **81.** Zur Kenntnis des Baues der Lunge des Menschen. Verh. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg, Bd. 16.

—, **86.** Der feinere Bau des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss Zool. Bd. XLIV, p. 1—37.

—, **93.** Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl. Bd. 2, 1. Hälfte. Leipzig.

Kolossow, A., **92.** Über eine neue Methode der Bearbeitung der Gewebe mit Osmiumsäure. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 9.

—, **98.** Eine Untersuchungsmethode des Epithelgewebes, besonders der Drüsenepithelien, und die erhaltenen Resultate. Mit 3 Taf. Arch. f. mikrosk. Anat. 52. Bd.

Kopsch, Fr., **96.** Erfahrungen über die Verwendung des Formaldehyds bei der Chromsilber-Imprägnation. Anat. Anz. XI. Bd., p. 727.

Digitized by Google

Kopsch, Fr., **98.** Die Entwickelung der äufseren Form der Forellen-Embryos. Arch. f. mikrosk. Anat. u. Entwickelungsgesch. 51. Bd., p. 181—213, T. X u. XI.

Krause, C., **44.** Artikel Haut in: Handwörterb. d. Physiol., herausg. von R. Wagner. 2. Bd. Braunschweig.

Krause, R., **93.** Beiträge zur Histologie der Wirbeltierleber. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 42, p. 53—82.

Krause, W., **84.** Untersuchungsmethoden. Internation. Monatsschrift f. Anat. und Histol. Bd. 1.

Krönig, **86.** Einschlufskitt für mikroskopische Präparate. Arch. mikr. Anat. 27. Bd., p. 657—658.

Kronthal, P., **99.** Eine neue Färbung für das Nervensystem. Neurolog. Centralblatt Nr. 5, p. 196—203.

Krysinski, S., **87.** Beiträge zur histologischen Technik. Virchows Arch. Bd. 108, p. 217—219.

Kühne, W., **62.** Über die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven. Leipzig.

—, **86.** Neue Untersuchungen über die motorische Nervenendigung Zeitschr. f. Biol. München. Bd. 23.

Kühne, W., und **Chittenden**, R. H., **89.** Über das Neurokeratin. Zeitschr. f. Biologie.

Kühne, W., und **Lea**, A. Sch., **74.** Über die Absonderung des Pankreas. Verh. d. Naturhist. Ver. Heidelberg. (N. F.) Bd. 1.

Kultschizky, N., **87 a.** Zur histologischen Technik. II. Celloidin-Paraffin-Einbettung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und f. mikr. T. Bd. IV, p. 48—49.

—, **87 b.** Zur Kenntnis der modernen Fixierungs- und Konservierungsmittel. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

—, **90.** Über Färbung der markhaltigen Nervenfasern in den Schnitten des Centralnervensystems mit Hämatoxylin und Karmin. Anat. Anz. Jahrg. 5.

Kupffer, C., **76.** Über Sternzellen der Leber. Arch. mikr. Anat. 12. Bd., p. 353—358.

—, **83**, 2. Über den »Axencylinder« markhaltiger Nervenfasern. Sitz.-Ber. Akad. München. 13. Bd., p. 466—475, 1 Taf.

—, **89.** Über den Nachweis der Gallenkapillaren und spezifischer Fasern in den Leberläppchen durch Färbung. Sitz.-Ber. Ges. Morph. Phys. München. 5. Bd., p. 82—86.

—, **99.** Über die sogen. Sternzellen der Säugetierleber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 54, H. 2, p. 254—288, mit 3 Taf.

Lang, Arnold, **78.** Konservation der Planarien. Zool. Anz. 1. Jahrg.

Langendorff, O., **89.** Beiträge zur Kenntnis der Schilddrüse. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt, Suppl. p. 219—242, T. 5.

Leber, T., **68.** Zur Kenntnis der Imprägnationsmethoden der Hornhaut und ähnlicher Gewebe. Arch. f. Ophthalmologie. Bd. 14.

Ledermann, R., und **Ratkowski**, **94.** Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie. Wien und Leipzig. W. Braumüller.

Digitized by Google

Lee, A. B., und **Mayer**, P., **98.** Grundzüge der mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen. 470 p. Berlin, Friedländer & Sohn.

Lenhossék, M. v., **95.** Der feinere Bau des Nervensystems im Lichte neuester Forschungen. Berlin. 2. Aufl.

—, **98.** Bemerkungen über den Bau der Spinalganglienzellen. Neurol. Centralblatt. Jahrg. 17, p. 577—593.

Lepkowsky, W., **92.** Beitrag zur Histologie des Dentins mit Angabe einer neuen Methode. Anat. Anz. Bd. 7.

Löwit, **75.** Die Nerven der glatten Muskulatur. Wiener Sitz.-Ber. Bd. 71.

London, B, **81.** Das Blasenepithel bei verschiedenen Füllungszuständen der Blase. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt. p. 317—330.

Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern, **84.** Über Endorgane der sensiblen Nerven in der Zunge der Spechte. Münchener akad. Sitz.-Ber.

Maas, Otto, **99.** Verlauf und Schichtenbau des Darmkanals von Myxine glutinosa L. Mit 3 Taf. Festschr. zum 70. Geburtstage v. Kupffers. p. 197—219.

Mall, F., **91.** Das reticulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen. Abh. Math. Physik. Class. Sächs. Ges. Wiss. 17. Bd., p. 299—338.

—, **96.** Reticulated tissue, and its relation to the Connective tissue fibrils. From the Johns Hopkins Hospital Reports. Vol. I. Baltimore.

Marchi et **Alghieri**, **85.** Sulla degenerazioni discendenti consecutivi a lesioni della corteccia cerebrale. Rivista sperimentale di frenatria. Vol. XI.

Mayer, P., **81.** Über die in der Zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 2, p. 1—27.

—, **83.** Einfache Methode zum Aufkleben mikroskopischer Schnitte. Mitt. Zool. Station Neapel. Bd. 2, p. 521—522.

—, **87.** Aus der Mikrotomtechnik. Internat. Monatsschr. f. Anat. und Physiol. Bd. 4.

—, **91.** Über das Färben mit Hämatoxylin. Mitt. Zool. Station zu Neapel. 10. Bd., p. 170—186.

—, **92.** Über das Färben mit Karmin, Kochenille und Hämatein-Thonerde. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 10.

—, **96.** Über Schleimfärbung. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 12.

—, **98.** Siehe **Lee**, A. B., und **Mayer**, P., **98.**

Mercier, A., **94.** Die Zenkersche Flüssigkeit, eine neue Fixierungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 11.

Merkel, F., **70.** Über die Macula lutea des Menschen und die Ora serrata einiger Wirbeltiere. Leipzig.

—, **77.** Eine neue Methode für Untersuchung des Centralnervensystems. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14.

—, **83.** Die Speichelröhren. Rektoratsprogramm Rostock. p. IV und 1—28, 2 Taf. Leipzig.

Digitized by Google

Meyer, S., **95.** Die subkutane Methylenblauinjektion, ein Mittel zur Darstellung der Elemente des Centralnervensystems vom Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.

—, **96.** Über eine Verbindungsweise der Neuronen. Nebst Mitteilungen über die Technik und die Erfolge der Methode der subkutanen Methylenblauinjektion. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwickelungsgesch. Bd. 47, p. 734—748. Mit 1 Taf.

Minot, Ch. S., **97.** On two forms of automatic microtomes. Science. N. S., vol. V, p. 857 ff.

Moleschott, Jak., **59.** Ein Beitrag zur Kenntnis der glatten Muskeln. Untersuchungen zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere. Bd. 6.

Moleschott, J., **Piso-Borme**, G., **63.** Über das Vorkommen gabelförmiger Teilungen an glatten Muskelfasern. Unters. zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere. Bd. 9.

Müller, Erik, **92.** Zur Kenntnis der Labdrüsen der Magenschleimhaut. Verhandlungen d. Biol. Vereins in Stockholm. Bd. 4, Nr. 8.

—, **95.** Über Sekretkapillaren. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 45, H. 3, p. 463—474.

Müller, H. F., **92.** Die Methoden der Blutuntersuchung. Zusammenfassendes Referat. Centralbl. Allg. Path. Path. Anat. 3. Bd, p. 801—820, 851—872.

Müller, H., **59.** Über glatte Muskeln und Nervengeflechte der Chorioidea im menschlichen Auge. Verhandl. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg.

Auch in: Heinrich Müllers Gesammelte und hinterlassene Schriften zur Anatomie und Physiologie des Auges. 1. Bd. Gedrucktes. Zusammengestellt und herausgeg. von Otto Becker.

Neeisen und **Schiefferdecker**, P., **82.** Beitrag zur Verwendung der ätherischen Öle in der histologischen Technik. Arch. f. Anat. und Phys. Anat. Abt.

Negro, C., **87.** Sur les terminaisons nerveuses motrices. Arch. ital. de biol. T. 9.

Neuhauss, R., **98.** Lehrbuch der Mikrophotographie. Braunschw. H. Bruhn. 2. Aufl.

Nissl, F., **94a.** Über die sogen. Granula der Nervenzellen. Neurolog. Centralbl. Nr. 19, 21, 22

—, **94b.** Mitt. über Karyokinese im centralen Nervensystem. Bericht über die 25. Versammlung des Südwestdeutschen psychiatrischen Vereins in Karlsruhe am 11. u. 12. Nov. 1893. In: Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und psychisch-gerichtliche Medizin. 51. Bd., p. 245—247.

—, **95.** Der gegenwärtige Stand der Nervenzellenanatomie und -Pathologie. Zeitschr. f. Psychiatrie. Bd. 51.

Nuel, J. P., et **Cornil**, F., **90.** De l'endothelium de la chambre antérieure de l'oeil, particulièrement de celui de la cornée. Archives de Biologie. T. 10.

Digitized by Google

Obersteiner, H., **96.** Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Centralorgane im gesunden und kranken Zustande. Leipzig und Wien.

Obregia, A., **90.** Serienschnitte mit Photoxylin oder Celloidin. Neurologisches Centralbl. Bd. 9.

Oppel, A., **90.** Eine Methode zur Darstellung feinerer Strukturverhältnisse der Leber. Anat. Anz., 5. Jahrg. p. 143—145.

—, **91.** Über Gitterfasern der menschlichen Leber und Milz. Anat. Anz., 6. Jahrg. p. 165—173, 4 Fig.

Pal, J., **86.** Ein Beitrag zur Nervenfärbetechnik. Med. Jahrb. Wien. p. 619—631.

Perényl, J., **82.** Über eine neue Erhärtungsflüssigkeit. Zool. Anz. 5. Jahrg.

Peter, K., **99.** Demonstration des Born-Peterschen Verfahrens zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien u. s. f. Verh. d. Anat. Gesellsch. in Tüb. 21./24. V. 1899.

Petri, R. J., **96.** Das Mikroskop. Von seinen Anfängen bis zur jetzigen Vervollkommnung. Berlin. R. Schoetz. 248 p., 191 Abb. im Text.

Pfitzner, W., **80.** Die Epidermis der Amphibien. Morph. Jahrb. Bd. 6.

—, **82.** Über den feineren Bau der bei der Zellteilung auftretenden fadenförmigen Differenzierungen des Zellkernes. Morph. Jahrb. 7. Bd.

Plehn, F., **90.** Äthiologische und klinische Malaria-Studien. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8. S. 359 (H. F. Müllers Blutreferat p. 809).

Pleuge, H., **96.** Härtung mit Formaldehyd und Anfertigung von Gefrierschnitten, eine für die Schnelldiagnose äufserst brauchbare Methode. Münchener med. Wochenschr. Nr. 4.

Podwissotzki, **87.** Über die Beziehungen der quergestreiften Muskeln zum Papillarteil der Lippenhaut. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30, p. 327, T. 17.

Politzer, A., **89.** Die anatomische und histologische Zergliederung des menschlichen Gehörorgans im normalen und kranken Zustande. Stuttgart.

Pollack, B., **98.** Die Färbetechnik des Nervensystems. 2. Aufl. Berlin (VI, 172 p).

Prudden, J. M., **85.** Fragekasten. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 2.

Rabl, C., **85.** Über Zellteilung. Morph. Jahrb. 10. Bd., p. 214 bis 330, T. 7—13.

—, **94.** Einiges über Methoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XI.

—, **1900.** Über den Bau und Entwickelung der Linse. Leipzig.

Rabl, H., **91.** Die Entwickelung und Struktur der Nebennieren bei den Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.

Ranvier, **68.** Technique microscopique. Journal de l'Anat.

—, **75.** Des préparations du tissu osseux avec le bleu d'aniline insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcohol. Travaux Lab. Histol. p. 16—21.

Digitized by Google

Ranvier, 78. Leçons sur l'histologie du système nerveux. Bd. 1, p. III und 1—352. 4 Taf. 20 Fig. und Bd. 2, 380 p., 8 Taf.
—, **80.** Leçons d'anatomie générale sur le système musculaire. p. 1—466, 99 Fig. Paris.
—, **81.** Leçons d'anatomie générale. Terminaisons nerveuses sensitives Cornée. p. XX, 447, 54 Fig. Paris.
—, **89.** Traité technique d'histologie. Paris, 2 éd.
Vom Rath, O., **95.** Zur Konservierungstechnik. Anat. Anz. 11. Bd., p. 280—288.
Rauber, A., **76.** Über die Stellung des Hühnchens im Entwickelungsplan. Engelmann.
Rawitz, B., **95 a.** Die Verwendung der Alizarine und Alizarincyanine in der histiologischen Technik. Anat. Anz. Bd. 11.
—, **95 b.** Über eine Modifikation in der substantiven Verwendung des Hämateins. Anat. Anz. Bd. XI, p. 301—303.
Rehm, 92. Einige neue Färbungsmethoden zur Untersuchung des centralen Nervensystems. Münchener mediz. Wochenschrift, Jahrg. 39.
Reichert, K. B., **49 a.** Die glatten Muskelfasern in den Blutgefäfswandungen. Müllers Archiv.
Auch: Observationes microchemicae circa nonnullas animalium telas. Dorpati, 1848. Paulsen.
—, **49 b.** Beobachtungen über eine eiweifsartige Substanz in Krystallform Müllers Arch., Jahrg. 1849.
Reinke, Fr., **93.** Über einige Versuche mit Lysol an frischen Geweben zur Darstellung histologischer Feinheiten. Anat. Anz. p. 18—19.
—, **95.** Die japanische Methode zum Aufkleben von Paraffinschnitten. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 12.
Renaut, J., **99.** Traité d'histologie pratique. Tome II, fasc. 1. Paris 1897. Tome II, fasc. 2. Paris 1899.
Retzius, G., **84.** Das Gehörorgan der Wirbeltiere. 2. Bd. (Reptilien, Vögel und Säuger.) Stockholm.
Riese, H., **91.** Über die Technik der Golgischen Schwarzfärbung durch Silbersalze etc. Centralbl. f. allg. Pathol. u. patholog. Anat. II. Bd., p. 497—519.
Röse, C., **92.** Über die v. Kochsche Versteinerungsmethode. Anat. Anz. VII. Jahrg, p. 512—519.
—, **93.** Über die Zahnentwickelung der Krokodile. Morpholog. Arb. von G. Schwalbe. III Bd., 2. H., p. 195—228.
Rollett, A., **59.** Untersuchungen über die Struktur des Bindegewebes. Unters. z. Naturlehre d. Menschen und der Tiere. Herausg. von Moleschott. Giefsen. Bd. 6.
—, **71.** Von den Bindesubstanzen. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.
—, **72.** Über die Hornhaut. Handbuch der Lehre von den Geweben. Herausg. von Stricker.
—, **85.** Untersuchungen über den Bau der quergestreiften Muskelfasern. Denkschr. Akad. Wien, math.-naturw. Kl. Bd. 49, Abt. 1, p. 81—132 und Bd. 51, Abt. 1, p. 23—68.

Digitized by Google

Rollett, A., **89.** Anatomische und physiologische Bemerkungen über die Muskeln der Fledermäuse in: Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien. 98. Bd. 3. Abt. math. nat. Kl. p. 169—183, 4 Taf,

Sauer, H, **95.** Neue Untersuchungen über das Nierenepithel und sein Verhalten bei der Harnabsonderung. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. Bd. 46.

Schaffer, J., **88.** Die Färberei zum Studium der Knochenentwickelung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

—, **93.** Die Methode der histologischen Untersuchung des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.

—, **96.** Mikrotechnisches Histologisches. Geschichte des Mikroskops. Wien. Klin. Wochenschr. Jahrg. 1896, Nr. 45.

—, **99.** Zur Kenntnis der glatten Muskelzellen, insbesondere ihrer Verbindung. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. 66, p. 214—268.

Schlefferdecker, P., **82.** Über die Verwendung des Celloidins in der anatomischen Technik. Arch. Anat. u. Phys., Anat. Abt.

—, **86.** Methode zur Isolierung von Epithelzellen. Jahrb. f. wiss. Mikr. Bd 3.

Schmaus, H., **91.** Technische Notizen zur Färbung der Axencylinder. Münchener med. Wochenschr.

Schneider, A., **80.** Über Befruchtung. Zoolog. Anz.

Schultze, M., **64.** Die Anwendung mit Jod konservierter tierischer Flüssigkeiten als macerierendes und konservierendes Mittel bei histologischen Untersuchungen. Virchows Arch. Bd. 30, p. 263—265

—, **65.** Ein heizbarer Objekttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

—, **71.** Essigsaures Kali zum Aufbewahren mikroskopischer Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 7.

Schultze, M., und **Rudneff,** M., **65.** Weitere Mitteilungen über die Einwirkung der Überosmiumsäure auf tierische Gewebe. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

Schultze, O, **87.** Untersuchungen über Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 45.

—, **97.** Grundrifs der Entwickelungsgeschichte des Menschen und der Säugetiere. Leipzig.

—, **99.** Über das erste Auftreten der bilateralen Symmetrie im Verlauf der Entwickelung. Arch. f. Anat. und Entwickelungsgesch. 55. Bd., p. 171—230 m. T. XI und XII und 2 Textfig.

Schulze, F. E., **71.** Die Lungen. Strickers Handb. der Lehre von den Geweben. Leipzig.

Schweigger-Seidel, F., **65.** Die Nieren des Menschen und der Säugetiere in ihrem feineren Baue. p. 1—92, 4. Taf Halle.

Seligmann, S., **99.** Die mikroskopischen Untersuchungsmethoden des Auges.

Sobotta, E., **95.** Die Befruchtung und Furchung des Eies der Maus. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 45, p. 15—93.

Solger, B., **83.** Über die Einwirkung des Wasserstoffhyperoxydes auf tierische Gewebe. Centralbl. f. d. med. Wiss.

Digitized by Google

Solger, B., **89a.** Kohlensaurer Ammoniak, ein Mittel zur Darstellung des Sarkolemmas. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 6.
—, **89b.** Zur Struktur der Pigmentzelle. Zool. Anz. 12. Jahrg.
—, **93.** Zur Kenntnis osmierten Fettes. Anat. Anz. Bd. 8.
—, **96.** Über den feineren Bau der Glandula submaxillaris des Menschen, mit besonderer Berücksichtigung der Drüsengranula. 2 Taf. Festschr. z. 70. Geburtstag von Gegenbaur. Bd. 2, p. 179—248.
Spee, Graf F., **85.** Leichtes Verfahren zur Erhaltung linear geordneter lückenloser Schnittserien mit Hilfe von Schnittbändern. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und für mikroskop. Techn. Braunschweig. Bd. 2.
—, **87.** Über die ersten Vorgänge der Ablagerung des Zahnschmelzes. Anat. Anz. 2. Jahrg.
Stintzing, R., **99.** Zur Struktur der Magenschleimhaut. Festschrift für v. Kupffer. p. 53—56.
Stöhr, Ph., **94** und **98.** Lehrbuch der Histologie. 6. Aufl. 1894 und 8. Aufl. 1898. Jena. G. Fischer.
Stofs, A., **91.** Konstruktion eines Kühlmessers. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.
Strasser, H., **86.** Über das Studium der Schnittserien und über die Hilfsmittel, welche die Rekonstruktion der zerlegten Form erleichtern. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.
—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.
Streizoff, Z., **73.** Über die Histogenese der Knochen. Unters. a. d. pathol. Institut Zürich. Leipzig.
Ströbe, H., **93.** Zur Technik der Achsencylinderfärbung im centralen und peripheren Nervensystem. Centralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. IV. B. p. 49—57.
Tappeiner, H., **90** und **99.** Lehrbuch der Arzneimittellehre und Arzneiverordnungslehre. Leipzig 1890, 3. Aufl. 1899.
Teichmann, L. K., **53.** Über Krystallisation der organischen Bestandteile des Blutes. Zeitschr. f. rationelle Medizin. Bd. 3.
Teljatnik, T., **97.** Zur Technik der Marchischen Färbung des Centralnervensystems. Neurolog. Centralbl. Nr. 11. p. 521.
Tellyesniczky, K., **98.** Über die Fixierungs- (Härtungs-) Flüssigkeiten. Arch. f. mikr. Anat. 52. Bd. p. 202—247, T. 14.
v. Thanhoffer, **77.** Über die Entzündung nebst einigen Bemerkungen über die Struktur der Hornhaut und über die Eosin-Reaktion. Centralbl. d med. Wiss.
Thoma, R., **91.** Eine Entkalkungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 8. Bd., p. 191—192.
Unna, P. G., **91.** Notiz, betreffend die Tänzersche Orceinfärbung des elastischen Gewebes. Monatshefte f. prakt. Dermatolog. XII. Bd., p. 394—396.
—, **98.** Der Nachweis des Fettes in der Haut durch sekundäre Osmierung. Monatshefte f. prakt. Dermatologie. Bd. XXVI, p. 601—613, 2 T.

Digitized by Google

Virchow, R., **47.** Die pathologischen Pigmente. Virch. Arch. Bd. 1.
—, **50.** Einige neue Beobachtungen über Knochen- u. Knorpelkörperchen. Verh. d. Physik.-med. Ges. Würzburg. Bd. 1, p. 192—197.
Waldeyer, W., **82.** Untersuchungen über die Histogenese der Horngebilde, insbesondere der Haare und Federn. Beiträge zur Anat. u. Embryol. als Festgabe f. J. Henle. Bonn.
Weigert, C., **78.** Bismarckbraun als Färbemittel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 15.
—, **81.** Zur Technik der mikroskop. Bakterienuntersuchungen. Virchows Archiv. Bd. 84.
—, **85.** Über Schnittserien von Celloidinpräparaten des Centralnervensystems zum Zwecke der Markscheidenfärbung. Zeitschrift f. wiss. Mikr. Bd. 11.
—, **91.** Zur Markscheidenfärbung. Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 42, 9 p.
—, **94.** Technik. Ergebnisse der Anatomie und Entwickelungsgeschichte. Bd. 3.
—, **95.** Beiträge zur Kenntnis der normalen menschl. Neuroglia. Festschr. zum fünfzigjähr. Jubiläum des ärztl. Ver. zu Frankfurt a./M.
—, **98.** Über eine Methode zur Färbung elastischer Fasern. Centralbl. f. allg. Path. Bd. 9, p. 289—292.
Weismann, A., **61.** Über das Wachsen der quergestreiften Muskeln nach Beobachtungen am Frosche. Zeitschr. f. ration. Med. 3. Reihe. Bd. 10, p. 263—284.
Westphal, E., **80.** Über Mastzellen. Inaug.-Diss. Berlin.
Whitman, C. O., **88.** The eggs of amphibia. American Naturalist. Vol. 22.
Wicklein, E., **89.** Experimenteller Beitrag zur Lehre vom Milzpigment. Inaug.-Diss. Dorpat.
Wissozky, N, **77.** Über das Eosin als Reagens auf Hämoglobin etc. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13.
Wolters, M., **90.** Drei neue Methoden zur Mark- und Achsencylinderfärbung mittels Hämatoxylin. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 7.
Woronin, **98.** Eine neue histologische Methode. Arbeiten aus der therapeutischen Klinik von P. M. Popoff. Moskau. (Russisch.)
Zenker, K., **94.** Chromkali-Sublimat-Eisessig als Fixierungsmittel. München. med. Wochenschr. Jahrg. 41, p. 532—534.
Ziegler, P., **99.** Ein Beitrag zur Technik der histologischen Untersuchung des Knochens. Festschrift zum 70. Geburtstag v. Kupffers. p. 49—52.
Zimmermann, A., **95.** Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wiss. Mikr. Leipzig und Wien.
Zimmermann, K. W., **98.** Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 52, p. 552—706.

Digitized by Google

Autoren-Register.

§§

Abbé 240, 316.
Afanassiew 278.
Alexander 243.
Altmann 24, 141, 251, 252, 253, 254, 506, 507, 513, 546, 720, 723.
Apathy 87, 93, 140, 147, 150, 164, 190, 199, 217, 227, 481.
Argutinsky 140, 151.
Arnstein 477.
Auerbach 554.
Azoulay 336, 489.

Balfour 60.
Ballowitz 619.
Balter 442.
Barfurth 413, 641.
Barlow 675.
Bastian 397.
Behrens, F., 566.
Benda 202, 594, 624.
Beneden, siehe Van Beneden.
Berkley 575.
Bethe 478, 479, 480.
Biedermann 533.
Biondi 231, 284, 301, 302, 547, 552, 565, 585.
Blanc 634.
Blochmann 95.
Blum 66.
Böhm 562, 569, 596, 631, 697.

§§

Böhmer 190, 191, 192, 194, 223, 226, 529.
Bonnet 703, 704.
Born 123, 142, 233 ff., 237 ff., 238, 241, 243, 410, 642.
Boveri 627.
Bowman 396.
Brandt 98.
Braus 564.
Bremer 434.
Buzzi 679.
Bütschli 250.

Cajal Ramon y 470, 475, 489, 562, 704, 737, 751.
Carnoy 250.
Carrière 697.
Chrzonszczewsky 560, 593.
Coccius 266.
Cohnheim 314, 397, 400, 432.
Cohnstein 277.
Cornil 713.
Corning 476.
Corti 742, 744.
Cox 458, 466, 596.
Czokor 188.

Daddi 337.
Davidoff, v. 596.
Dejerine 495.

Digitized by Google

§§
Delafield 194, 222, 225, 248, 458.
Descemet 712.
Dogiel 477, 478, 480, 736.
Dreser 738.
Duval 86, 724.

Eberth 599.
Ebner, v. 361, 379, 389, 548.
Edinger 35.
Ehrlich 195, 204, 218, 231, 284, 294, 295, 296, 298, 300, 301, 302, 316, 431, 477, 535, 547, 552, 565, 585, 736.
Engel 316.
Engelmann 429.
Erlicki 29, 31, 34, 482, 485, 487.
Ewald 263, 264, 280, 308, 314, 331, 372, 410, 532, 617.

Ferria 686.
Fick 618, 640, 641.
Fischer, A., 24, 26, 33, 41, 66, 67, 169, 254.
Fischer, E., 220, 433, 434.
Flechsig 490
Flemming 24, 40, 42, 43, 45, 46, 47, 206, 207, 248, 249, 254, 326, 336, 362, 376, 378, 407, 413, 455, 489, 509, 510, 518, 519, 531, 543, 552, 576, 577, 585, 608, 621, 624, 630, 641, 653, 664, 675, 683, 707, 740, 747.
Fleischl 426.
Flesch 352.
Flinser 266.
Fol 46.
Foster 60.
Franke 635, 643.
Freeborn 323.
Frey 190.
Friedländer 195.
Frommann 420, 422, 461.
Froriep 392.

Gad 442.
Gasser 59.
Gaule 141.
Gerlach 459, 462, 567.
Germer 279.

§§
Giannuzzi 547.
Gierke 232.
Giesbrecht 73.
Gieson, siehe Van Gieson.
Goldscheider 702.
Golgi 66, 437, 440, 463, 464, 467, 468, 469, 471, 472, 495, 520, 527, 547, 553, 596, 737, 751.
Gram 248, 622.
Grandry 690, 695.
Grawitz 316.
Greef 738.
Grenacher 181, 226, 299.
Gscheidlen 305.
Günther 466.
Gulland 141.

Häcker 254, 626.
Hällstén 314.
Halliburton 427.
Hammer 247.
Hannover 28.
Hansen 197, 322, 344, 352, 498, 509, 516, 540.
Hassal 587.
Haug 354, 365.
Hayem 279.
Heidenhain, M., 200, 231, 232, 249, 547, 565.
Heidenhain, R., 199, 226, 231, 232, 284, 302, 519, 528, 538, 552, 585, 595.
Heilmeyer 485, 559.
Henle 425, 591.
Henneguy 146.
Hensen 671.
Herbst 690, 695.
Hermann 24, 47, 217, 248, 254, 620, 622.
Hertwig, O., 637.
His 236, 243, 511.
Hoehl 333.
Holmgren 314, 459.
Hoyer 535.

Joseph 704.

Kaes 488.
Kahlden, v. 222, 365.

Digitized by Google

§§
Kaiser 166.
Kaiserling 279.
Kallius 474.
Kann 598.
Kastschenko 236, 243.
Key 20.
Klaatsch 388.
Kleinenberg 60, 196.
Koch v., G., 370.
Koch, L., 103.
Kockel 311.
Kölliker, v., 382, 383, 426, 429, 546, 581.
Kolossow 271, 272.
Kopsch 472, 564, 630.
Krause, C., 266.
Krause, R., 200, 231, 565.
Krause, W., 396, 733, 734.
Krönig 165.
Kronecker 15.
Kronthal 475, 476.
Krysiński 89.
Kühne 331, 405, 406, 423, 435, 551, 738.
Kultschizky 92, 202, 413, 487, 488.
Kupffer, v., 427, 556, 562, 567, 568, 569, 570, 571.

Lang 51.
Langendorff 585.
Lanterman 417, 418.
Lea 551.
Leber 717.
Ledermann 679, 704.
Lenhossék 459, 495.
Lepkowsky 380.
Lo Bianco 56.
Löwenbach 704.
Loewenthal 35.
Löwit 433, 434, 436, 694, 703.
London 598.
Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern 695.

Maas 541, 542.
Mall 332, 513, 573.
Marchi 486, 489, 493, 494, 495.
Martinotti 686.

§§
Mayer, P., 51, 60, 144, 145, 181, 183, 186, 187, 189, 198, 204, 207, 209, 213, 216, 535 ff. 725.
Mayer, S., 477.
Mays 264, 280.
Meifsner 554, 690, 691, 692, 694.
Mercier 57.
Merkel 86, 550, 566, 689, 707, 708.
Meyer 478.
Minot 113.
Moleschott 409.
Müller, E., 527, 565.
Müller, H. F., 284, 316.
Müller, H., 24, 29, 30, 34, 57, 222, 326, 336, 337, 363, 457, 463, 464, 467, 482, 486, 487, 489, 493, 494, 496, 519, 564, 671, 674, 678, 686, 688, 705, 730, 740, 745, 746.
Muschenkoff 438.

Neelsen 90, 310.
Negro 441.
Neyt 250.
Nikiforoff 294.
Nifsl 201, 455, 456, 457, 491, 495.
Nuel 713.

Oberhäuser 240.
Obersteiner 495.
Obregia 140, 149.
Oppel 514, 563, 572

Pacini 690, 698.
Pal 202, 465, 485, 486, 489, 494, 622.
Partsch 299.
Perényi 27, 62, 597.
Peter 238, 243.
Petit 16.
Pfitzner 159, 206.
Plehn 303.
Pleuge 20.
Podwissotzki 407.
Politzer 746.
Pollack 495.
Pouchet 724.
Prichard 397, 697.
Purkinje 233, 416, 459, 496.

Digitized by Google

§§
Purkyné, siehe Purkinje.
Prudden 194.

Rabl, C., 61, 62 ff., 65, 188, 225, 248, 459, 726.
Rabl, H., 336, 599.
Ranvier 14, 97, 257, 265, 269, 318, 377, 381, 398, 399, 402, 404, 416, 417 ff., 420, 422, 433, 436, 444, 505, 508, 520, 574, 578, 595, 715, 716, 719, 720, 731, 743, 750.
Rath, vom, 47.
Ratkowski 679, 704.
Rauber 652.
Rawitz 221.
Rehm 491, 492.
Reichert 304, 408.
Reinke 67, 146.
Remak 428, 747.
Renaut 587.
Retzius 20, 379, 397, 742.
Riese 474.
Ripart 16.
Rivet 98, 112.
Röse 370, 387.
Rollett 308, 319, 396, 397, 400, 405, 714.
Rothe 568.
Rouville, de, 19.
Rudneff 37.

Samassa 68, 94.
Sauer 597, 665.
Schaffer 61, 323, 336, 389, 413, 466.
Scheibe 745.
Schiefferdecker 86, 90, 682.
Schmaus 460.
Schneider 145, 180.
Schultze, M., 13, 37, 161, 258, 287, 450.
Schultze, O., 389, 606, 636, 640, 664, 667, 685.
Schulze, F. E., 581.
Schwann 424.
Schweigger-Seidel 590.
Seligmann 738.
Semon 642.
Sharpey 379, 381, 382, 383.

§§
Sihler 442.
Smirnow 480.
Sobotta 668.
Solger 249, 339, 392, 546, 724.
Spee, Graf, 77, 379.
Stintzing 529.
Stöhr 444, 685.
Stork 628.
Stoss 129.
Strasser 239, 241, 243, 642.
Streiff 233.
Strelzoff 386.
Ströbe 463.

Taenzer 327, 684.
Tappeiner, v., 28.
Teichmann 306.
Teljatnik 494.
Tellyesniczky 27, 32.
Thanhoffer, v., 283.
Thoma 98, 316, 366.

Unna 327, 336, 458, 684, 724.
Urban 137.

Van Beneden 250.
Van Gieson 222.
Vater 690, 698.
Virchow, H., 630.
Virchow, R., 307, 384.

Waldeyer 188, 680.
Weigert 66, 112, 137, 140, 148, 149, 201, 202, 209, 214, 310, 311, 325, 326, 347, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 495, 498, 516, 540, 583, 684, 704.
Weil 370.
Weismann 402, 403.
Westphal 218, 299.
Whitman 638.
Wicklein 517.
Wissozky 283.
Wolters 488
Woronin 272.

Zenker 57, 608, 653, 707.
Ziegler, P., 354.
Zimmermann, K. W, 527.

Digitized by Google

Sach-Register.

A.

§§

Ablösung des Eiweifses . 145
Absoluter Alkohol . . . 74
Abziehen d. Rasiermessers 7
Abziehen des Mikrotommessers 109
Aceton 24
Adenoides Gewebe 329, **511** ff.
Afanassiewsche Flüssigkeit 278
Alaunkarmin 182
Alaunkarmin-Dahlia . . . **299**
Alkanna 533, 679
Alkohol absolutus . . . 74
Alkoholfixierung **25**
Alkohol $^1/_8$ (Ranvier) . . 257
Alkoholhärtung 18
Alkoholische Boraxkarminlösung 185
Alkoholtabelle 19
Alkoholverdünnung . . . 19
Altmanns Gefriermethode 252
» Granulamethoden 251 ff.
Altmannsche Korrosionsmethode **506**, 723
Alveoläres Bindegewebe . 331
Amöboide Bewegung . . 286
Amphibieneier 602, 605, 635 ff.
Anilinblau für Knochen . 377
Anilinblau (Ströbe) . . . 463
Anilinfarben, siehe Teerfarben
Apathys Goldmethode . . 481

§§

Aqua Javelli . 485, 506, 639
Areoläres Gewebe . . . 328
Argentum nitricum . . . 265
Atmungsorgane . . . 576 ff.
Atropin 523
Auerbachscher Plexus . . 554
Aufhellungsmittel für Celloidinpräparate . . . 137
Aufkleben . . . . . 138 ff.
von Celloidinschnitten 148 ff.
nach Apathy 150
» Argutinsky . . 151
» Obregia . . . 149
» Weigert . . . 148
von Paraffinschnitten 141 ff.
mit Alkohol 141
» Eiweifs 145
» Eiweifs-Wasser . 146
» Farblösung . . . 144
» Kollodium-Ricinusöl 239
» Traumaticin etc. . 251
» Wasser 144
von Celloidin-Paraffinschnitten 147
Aufspannen der Nerven 421, 427
Aufspannen von Darmstücken 525
Auge . . . . . 705 ff.
Aufsenzone des Pankreas . 552
Auswaschen 28, 34, 171
Automatische Mikrotome . 113

Digitized by Google

§§
Axencylinder . . . 426, 460
Azoulays Markscheidenfärbung 489

B.

Bänderschneiden . . . 77, 128
Basische Teerfarben **204**, 206 ff.
Bauchspeicheldrüse . . 551 ff.
Becherzellen . . . . 535 ff.
Befruchtung, künstliche . 633
Belegzellen . . . . . 526 ff.
Bendasche Hämatoxylinfärbung 624
Benzoazurin 145
Berlinerblau, Herstellung . 505
» Leim . . . 505
Berlinerblaureaktion . . . 517
Bethes Methylenblaufixation . . . . . 479 f.
Bezeichnung der Schnittreihenfolge 139
Bindegewebe . . . . 317 ff.
Bindegewebsfärbung 322 f., 540 ff.
Bindegewebe der Leber 567 ff.
Vergoldung 567
Dichromsaures Silber 569, 572
Pinselmethode 573
Verdauung 573
Bindegewebsknorpel . . . 352
Biondi-Ehrlichs Dreifarbgemisch **231**, 284
Bismarckbraun 209
Bleu de Lyon . . . **215**, 387
Blut . . . . . 273 ff.
» -Gefäfse **498**, 557, 584, 589
» -Körperchen . . . 273 ff.
Blutkörperchenzählapparat 316
Blutkreislauf . . . . 312 ff.
Blutkrystalle . . . . 304 ff.
Blutplättchen 278
Böhmersches Hämatoxylin 190
Bonnetsche Hämatoxylinmethode 704
Boraxkarminlösung, wässerige 184
Boraxkarminlösung, alkoholische 185
Borns Plattenmodelliermethode . . . . . 237 ff.

§§
Born's Wärmtischchen . . 142
Brüten 652

C.

Canadabalsam . . . . 157 f.
Celloidin . . . . . 69 ff.
Celloidindurchtränkung 71, **86** ff.
Celloidin-Löslichkeit . . 90
» -Paraffindurchtränkung . . . . . 91 ff.
Celloidinschnitte, Aufkleben . . . . . 148 ff.
Centrosomen. 249
Chloralhydratlösung . . . 734
Chloroform für Paraffindurchtränkung . . . 73, 81
Chorioidea 723
Chromameisensäure . . . 63
Chromatin 44, 246
Chrom-Essigsäuregemisch . **42**, 630, 640, 641
Chrom-Osmiumessigsäuregemisch **43**, 45, 46
Chromsäure . **28**, **260**, 363, 629
Chromsaurer Ammoniak (neutral) 595
Chromsaures Silber, siehe dichromsaures Silber.
Chrzonszczewskys Methoden . . . 560, 593
Cochenille-Alaun 188
Congorot . . . 529, 541, 542
Cornea . . . . . 710 ff.
Cortisches Organ 744
Cox Granulafärbung . . 458
Cox Sublimatfärbung . . 466
Curare 313
Cutis . . . . . 330, **683** ff.

D.

Dahlia-Alaunkarmin . . . 299
Dammarharz 159
Darm . . . . 518 ff., 524 ff.
Dauerpräparate von Blutkörperchen . . 280, 289 ff.
Deckgläschen 2
Deckglaspräparate . . . 290
Definierflächen 236
Delafields Hämatoxylin . 194

Digitized by Google

§§
Descemetsches Endothel 712 f.
Dichromsaures Kalium, siehe Kalium bichromicum.
Dichromsaures Silber 467 ff., 514, 562 f., 569, 572, 575
Dogiels Methylenblaumethode 478
Doppelfärbungen . . . 212 ff.
Doppelmesser . . . . . 8 f.
Doppeltchromsaur. Kalium, s. Kalium bichromicum.
Drüsen . . 522 ff., 544 ff., 577
Durchtränkung . . . 69 ff.
» s-Schema . 95

E.

Eau de Javelle 485, 506, 639
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 361
Ehrlich-Biondische Färbung . . **231**, 284, 302, 547
Ehrlichs Hämatoxylin **195**, 554
Ehrlichsche Granula . . 295 ff.
Ehrlichs Methylenblaumethode 477
Eier . . . . 601 ff., 625 ff.
» von Wirbellosen . . 626
» » Fischen 602, 605, 628 ff.
» » Amphibien 602, 605, 635 ff.
» » Reptilien 602, 605, 643 ff.
» » Vögeln . 602, 652 ff.
» » Säugetieren 603 f., 606 f., 659 ff.
Eierstock . . . 600 ff., 608 ff.
Eileiter . . . . . 611 f.
Einbetten . . . . . 84 f.
Einbetträhmchen . . . 84, 238
Einschliefsen . . . . 154 ff.
Einschliefsen von Knochenschliffen . . 375 ff.
Einschlufsmassen . . 155 ff.
Einspannen 116
Einstichinjektion 508
Eisennachweis 517
Eisenhämatoxylin . . . **200**
Eisessig, siehe Essigsäure.
Eiweifs (aufkleben) . . . 145
Eiweifskörper 24

§§
Eiweifslösende Reagentien 145
Elastische Fasern der Cutis 684 ff.
» » » Lunge 582 f.
Elastische Netze 499
Elastischer Knorpel . . 346 ff.
Elastisches Gewebe . . 324 ff.
Eleidintropfen 679
Embryologische Technik 625 ff.
Endokard 497
Endothelien . . . . . 265 ff.
Entkalken . . . . . 353 ff.
Entkalkungsflüssigkeiten.
Alkohol-Salpetersäure . 366
Chromsäure 363
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 361
Flemmingsche Lösung . 362
Konzentrierte Pikrinsäure **357**, 741
Müllersche Lösung . . 363
Phloroglucin mit Salzsäure 365
Pikrin- und Salpetersäure 357
Pikrinsäure, konzentr. **357**, 741
Salpetersäure . . **358**, 741
Salzsäure 355
Salzsäure-Chromsäure . 356
Schweflige Säure . **354**, 741
Eosin **220** f., 228, 282 f., 296 f.
Eosinophile Zellen . . . 296
Epidermiszellen 676
Epithelien **255** ff., 331, 530, 596 ff.
Epithelien der regio olfactoria 749
Epithelien der regio respiratoria 748
Erhitzen der Blutpräparate 294
Erlickische Flüssigkeit . . 31
Erwärmbarer Objekttisch . 287
Erythrocyten . . . . 273 ff.
Erythrosin 459
Essigsäure 24, 32, 43 ff., 57, 320, 322 f., 325, 430, 538, 631
Essigsaures Kalium . . . 161

F.

Fällungskraft d. Fixierungsmittel 24
Färbetechnik, Einübung 177 ff.

Digitized by Google

§§
Färbung . . . . . 168 ff.
Färbemethoden.
Alaunkarmin 182
» -Dahlia . . **299**
Alkoholische Boraxkarminlösung . . . 185
Anilinblau . . . 377, 463
Anilinfarben, siehe Teerfarben.
Azoulays Markscheidenfärbung 489
Bendas Hämatoxylin . 624
Benzoazurin 145
Berlinerblau 505
Biondi-Ehrlich, s. Ehrlich-Biondi.
Bismarckbraun 209
Bleu de Lyon . . **215**, 387
Böhmers Hämatoxylin . 190
Boraxkarminlösung, wässerige 184
Boraxkarminlösung, alkoholische 185
Cochenille-Alaun . . . 188
Congorot . . . . 529, 541 f.
Dahlia-Alaunkarmin . . 299
Delafields Hämatoxylin . 194
Doppelfärbungen . . 212 ff.
Ehrlich-Biondische Färbung . . . **231**, 284, 302
Ehrlichs Hämatoxylin . 194
Eisenhämatoxylin . . . 200
Eosin . **220** ff., 228, 282 f., 296 f, 386
Erythrosin 459
Friedländers Hämatoxylin 195
Fuchsin **210**, 457
Fuchsin S. 222, 229, 231, 251, 301, 322, 323, 326, 348, 513
Gentianaviolett 211, 249, 622
van Giesonsche Färbung 222
Glychämalaun 198
Goldmethoden, s. diese.
Golgis Methoden, s. diese.
Gramsche Methode . . 622
Grenachersche Karmine 181 ff.
Hämalaun (P. Mayer) . 189
Hämatoxylin, s. dieses.
Hämatoxylin-Eosin . 220 f.

§§
Färbemethoden.
Hämatoxylin-Indigokarmin 216
Hämatoxylin-Orange G. . 223
Hämatoxylin-Pikrinsäure **219**, 388
Hämatoxylin-Safranin . 225
Hansens Bindegewebsfärbung 322
Hansens Hämatoxylin . 197
M. Heidenhains Hämatoxylin 200
R. Heidenhains Hämatoxylin 199
Indigokarmin 216, 560, 593, 689
Indulin . . . . . 296 f.
Karmin-Bleu de Lyon . 215
Karminfärbung, s. diese.
Karmin-Hämatoxylin . 386
» -Indigokarmin . 216
Kernfärbung . . . 171 ff.
Kleinenbergs Hämatoxylin 196
Kongorot . 529, 541 ff., 542
Kultschitzkys Hämatoxylin . . . . . 487 f.
Magenta, s. Fuchsin.
Mayer, P., Glychämalaun 198
» » Hämalaun . 189
» » Karmalaun . 183
» » Muchämateïn 537
» » Mucikarmin . 536
» » Parakarmin . 187
Mehrfachfärbungen . 212 ff.
Methylenblau 269, 300, 301, 431, 456, 458, **477** ff., 520, 535, 736
Methylgrün 208, 228, 229, 230, 231, 250, 386
Methylgrün-Eosin . . . 228
Methylgrün-Fuchsin S. . 229
Methylgrün-Fuchsin S. Orange **231**
Methylgrün-Safranin . . 230
Methylviolett 377
Muchämateïn 537
Mucikarmin 536
Neutraler Farbstoff . . 301
Nigrosin 323
Nifsls Hämatoxylinfärbung 201

Digitized by Google

§§

Färbemethoden.
Orange . . 223, 231, 249, 296
Orceïn . . 174, **327**, 516, 540
Osmiumsäure 38
Palsche Hämatoxylinfärbung 485
Pikrinsäure . 209, 222, 251
Pikrokarmin 214
Pikromagnesia-Karmin . 213
Pikronigrosin 323
Rubin S., s. Fuchsin S.
Safranin . **206**, 225, 230, 249
» -Gentianaviolett 622
» -Gentianaviolett Orange 249
Safranin-Indigokarmin . 217
» -Pikrinsäure . . 219
Schneiders Karmin . . 180
Schnittfärbung . . . 176 f.
Stückfärbung . . . 176 f.
Sublimat . . . . . 464 ff.
Sudan III 337
Tabelle der Mehrfachfärbungen 232
Taenzer-Unnasche Orceïnfärbung 327
Teerfarben, siehe diese.
Thionin . . 207, 455, 535
Triacidgemisch 231
Urankarmin 460
Versilberungsmethoden, siehe diese.
Wässerige Boraxkarminlösung 184
Weigert, elastische Fasern **326**
» Fibrinfärbung . 310
Weigerts Hämatoxylin 482 ff.
Färbetechnik, Einübung 177
Färbung . . . . . 168 ff.
Färbung durch Fixationsmethoden 168
Färbung durch Osmiumsäure 38, 168
Farbgläser 179
Farbstoffe 174
Fett . . . . . 334 ff., 489
Fettimprägnation 507
Fettresorption . . . . 531 ff.
Fettzellen . . . . . 334 ff.

§§

Fibrillen der Muskeln . 394 ff.
» des Nerven . . 427
» der Sehne . . 319 ff.
Fibrinfärbung . . . . 309 ff.
Fischeier . . 602, 605, 628 ff.
Fixationsmethoden . . . 21 ff.
Afanassiewsche Flüssigkeit 278
Alkoholfixierung . . 25 ff.
Chloralhydratlösung . . 734
Chromameisensäure . . 63
Chromessigsäure 42, 630, 640, 641
Chromosmiumessigsäure 43, 45, 46
Chromsäure . . **28**, 363, 629
Doppeltchromsaures Kalium 29
Erhitzen der Blutpräparate 294
Erlickische Flüssigkeit . 31
Flemmingsche Lösung **43, 45**, 639
Folsche Mischung . . . 46
Formol **66**, 636
Gefrieren . 17, 20, 110, 252
Hermanns Gemisch . 47, 622
Kaliumbichromat-Essigsäure 32
Kalium bichromicum . . 29
Lysol 67
Merkelsche Flüssigkeit . 708
Molybdänsaures Ammoniak-Chromsäure . . 253
Müllersche Flüssigkeit . 30
Osmiumsäure, siehe Osmiumtetroxyd
Osmiumtetroxyd **37 ff.**, 268, 280, 289, 336, 398, 419, 421, 427, 731
Perényische Flüssigkeit **62**, 597
Pikrinessigsäure . . . 648
Pikrinosmiumessigsäure . 48
Pikrinosmium-Platinchlorid-Essigsäure . . 49
Pikrinsäure **59**, 219, 222, 251, 357, 513
Pikrinsalpetersäure . **60**, 357
Pikrinschwefelsäure **60**, 645, 653, 662
Pikrinsublimat 61

Digitized by Google

§§
Fixationsmethoden.
Pikrinsublimatosmiumsäure 50
Platinchloridlösung . **64,** 248
Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig . . 47, 622
Platinchloridsublimat . 65
vom Rathsche Gemische **48, 49, 50**
Salpetersäure **58,** 246, 268, 653, 730
Salpetersäure-Silbernitrat 268, 656
Sauersche Flüssigkeit . 597
Sublimat **51 ff.,** 246, 293, 657
» -Alkohol . . 54
» -Blutpräparate 293
» -Chromsäure . 56
» -Eisessig . . 631
» -Kochsalz . **53,** 293
Trockenpräparate . . . 291
Trocknen 17, 20
Überosmiumsäure, siehe Osmiumtetroxyd.
Zenkersche Flüssigkeit . 57
Fixierungsflüssigkeiten . . 21 ff.
Flächenhafte Rekonstruktion 234, 236
Flechsigsche Methode . . 490
Flemmingsche Flüssigkeit 43, 45
Flimmerepithelien . . . 255
Folsche Mischung . . . 46
Form zum Einbetten . . 84
Formaldehyd, siehe Formol.
Formol . . . 20, 24, **66,** 636
Friedländers Hämatoxylin 195
Frische Organe . . . **1,** 255
Frommannsche Linien 420, 422, 461
Fuchsin **210,** 457
Fuchsin S. 222, 229, 231, 251, 301, 322, 323, 326, 348, 513

G.

Galle 276, 738
Gallenkapillaren.
Färbung . . . 559, 565, 566
Injektion 558
Selbstinjektion 560
Silbermethode 562, 563, 564

§§
Ganglienzellen . . . . 446 ff.
Gedehnter Muskel . . . 398
Gefäfse . . . . . 498 ff.
Gefrierapparat 110
Gefrieren 17, 20, 110
Gefriermethode Altmanns 252
Gehirn . . . . . 445 ff.
Gelatinekarminlösung . . 504
Geldrollen-Anordnung der roten Blutkörperchen . 273
Gentianaviolett . 211, 249, 622
Gerlachsche Goldmethode 462
Geschlechtsorgane . . 600 ff.
Geschmacksknospen . . . 519
Giannuzzische Halbmonde 547
van Giesonsche Färbung . 222
Glatte Muskelfasern . . 408 ff.
Glycerin . 135, 154, 155, **160.**
Glychämalaun 198
Glykogen 346, 574
Goldchlorid 434
Goldchloridkalium . . . 437
Goldmethoden . . . . 432 ff.
Apathysche G. 481
Böhmsche G. 697
Cohnheimsche G. . . . 432
Gerlachsche G. . . **462,** 567
Golgische G. 437
Kühnesche G. 435
v. Kupffers G. . . 567, **571**
Lepkowskysche G. für Knochen 380
Löwit-Fischersche G. . . 434
Muschenkoff 438
Ranviersche G. 436
Rollettsche G. f. Muskeln 397
Stöhrsche G. 444
Golgische Goldmethode . 437
Golgische Sublimatmethode 464
Golgis Silbermethoden . 467 ff.
Golgis Nervenendorgane . 440
Gramsche Methode . . . 622
Grandrysche Körperchen 695 ff.
Granula der Ganglienzellen 455 ff.
Granulamethoden Altmanns . . . . . 251 ff.
Granulierte Wanderzellen 295 ff.
Graphische Jsolierung . . 236
Grenachersche Karmine 181 ff.

Digitized by Google

§§

H.

Haare . . . . . 687 ff
Hämalaun (P. Mayer) 178 ff., **189**
Hämatoidinkrystalle . . . 307
Hämatoxylin.
Benda 624
Böhmer 190
Bonnet 704
Delafield 194
Ehrlich 195
Friedländer 195
Hansen 197
Heidenhain, M., . . . 200
Heidenhain, R., ... 199
Kleinenberg 196
Kultschitzky . . . 487 f.
Mayer, P, (Gylchämalaun) 198
» » (Hämalaun) . 189
» » (Muchämateïn) 537
Nifsl 201
Pal 485
Weigert . . . . . 482 ff.
Hämatoxylin-Eosin . . 220 f.
» -Färbung 177 ff., 189 ff., 192, 193
» -Indigokarmin 216
» -Kongorot 529, 541
» -Orange G. . 223
» -Pikrinsäure . 219
» -Safranin . . 225
Häminkrystalle 306
Hämoglobin 274
» -Krystalle . . 304 f.
Härtung **18**, 20
Halbeintrocknung Ranvier 318
Hansens Bindegewebsfärbung **322**, 516, 540
» Hämatoxylin . . 197
Harnblase 4, 255, 598
Harnkanälchen . . . . 590 ff.
Hartgebilde . . . . . 371 ff.
Hauptzellen 528
Haut . . . . . 674 ff.
Heber nach Mays . . . 264
Heidenhain, M., Hämatoxylinfärbung 200
Heidenhain, R., Hämatoxylinfärbung 199
Heizbarer Objekttisch . . 287

§§

Henlesche Scheide . . . 425
Herbstsche Körperchen 695 ff.
Hermannsches Gemisch 47, 622
Herz . . . . . 496 ff.
Herzmuskel . . . . . 414 ff.
Hissche Pinsel- u. Schüttelmethode 511
Hoden . . . . . 620 ff.
Höllenstein 265
Hollundermark . . . 6, 288
Holzessig 47, 554
Hornhaut . . . . . 710 ff.
Hornhautkörperchen . 715 ff.
Hornspongiosanetze . . . 423
Hornsubstanz . . 331, 677 ff.
Humor aqueus 11
Hyaliner Knorpel . . 340 ff.
Hydrargyrum bichloratum, s. Sublimat.

I.

Indifferente Lösungen . 10 ff.
Indigokarmin 216, 560, 593, 689
Indulin . . . . . 296 f.
Injektionsverfahren . . . 504
Injektion der Blutgefäfse 503 ff.
Injektion der Blutgefäfse der Leber 557
Injektion der Blutgefäfse der Niere 589
Injektion der Gallenwege 558
Injektionsmassen . . . 504 f.
Injizieren von Fixationsflüssigkeit 524
Innenzone des Pancreas . 552
Instrumente für Sublimat 51
» » Versilberung 267
Intercellularbrücken 271 f., 413
Jodfärbung 346
Jod Jodkalium 14
Jodserum, M. Schultze **13**, 258
Iris 722
Isolationsmittel
256 ff., 394 f., 447 ff., 588 f.
Alkohol, Ranvier **257**, 263, 416, 447, 449, 595, 728, 748 ff.
Ammonium bichromicum 261
» monochromat. 416

Digitized by Google

§§

Isolationsmittel.
Barytwasser 319
Chloralhydrat 734
Chromsäure **260**, 394, 426, 451
Erhitzen im Sandbad . 405
Essigsäure 395
Jodserum . . . **13**, 258, 450
Kalilauge 403, 409, 414, 499, 592
Kalium bichromicum . **261**, 426, 452
Kalkwasser . . . 319, 714
Kochsalzlösung 262
Magensaft 395
Natronlauge 499
Neutraler chroms. Ammoniak 595
Osmiumsäure 259, 447, 453, 530
Rauchende Salpetersäure 408, 591
Salpetersäure 408, 591, 727
Salzsäure 395, 590
Schwefelsäure 406
Trypsin . . . . . 331 ff.
Übermangansaures Kalium 714
Weinsäure 499
Jungsches (Thoma) Mikrotom . . . . . 98 ff.

K.

Käfermuskeln 396
Kaiserscher Maskenlack . 166
Kalilauge 321, 325, 403, 409, 414, 499, 592
Kaliumbichromat-Essigsäure 32
Kalium bichromicum . **29**, 261
Kalkreaktion 550
Kapillaren 503
Karmalaun 183
Karminfärbung . . 174, **180** ff.
Alaunkarmin 182
Boraxkarmin, alkoh. . . 185
» wässer. . 184
Cochenille Alaun . . . 188
Grenachersche Karmine 181 ff.
P. Mayerscher Karmalaun 183
P. Mayers Mucikarmin . 536
P. Mayers Parakarmin . 187

§§

Karminfärbung.
Schmaus' Urankarmin . 460
Schneiders Karmin . . 180
Karmin-Bleu de Lyon **215**, 387
» -Hämatoxylin . . 386
» -Indigokarmin . . 216
» -Pikrinsäure . . . 219
Karminleim 504
Karyokinesen . . . . 246 ff.
Kehlkopf . . . . . 576 ff.
Keimcentren 510
Keimepithel 610
Kephalopoden-Knorpel . . 345
Keratohyalinkörner . . 679 f.
Kern . . . . . 245 ff.
Kernfärbung . 171 f., 180 ff., 189 ff., 206 ff.
Kernteilungen . . . . 246 ff.
Klassifikation d. Teerfarben 204
Kleinenbergs Hämatoxylin 196
Knochen . . . . . 353 ff.
Knochenkörperchen Virchows 384
Knochenmark . . . . 369 f.
Knochenschliffe . . . 373 ff.
Knorpel . . . . . 340 ff.
Kochsalzlösung als Isolationsmittel 262
Kochsalzlösung physiologische 12
v. Kochsche Methode . . 370
Kockels Fibrinfärbung . . 311
Kohlensaurer Ammoniak . 392
Kollodiumdurchtränkung . 86
Kolloidreaktionen . . . 586
Kolloidsubstanz 586
Kongorot . . . 529, 541, 542
Konservierung 22
Konservierungs-, siehe Fixationsmethoden.
Kontrahierter Muskel . . 398
Korrektion der Überfärbung 172, 192
Korrosionspräparate . . . 506
Kreuze Ranviers . . 313, **446**
Krönigscher Lack . . . 165
Kroneckersche Flüssigkeit 15
Kronthals Schwefelbleifärbung 475

Digitized by Google

§§
Krystallhaltige Blutkörperchen 308
Kühlmesser 129
Kühnesche Goldmethode . 435
» Netze . . . 423
» Trypsinverdauung 331
Künstliche Befruchtung . 633
Kultschitzkys Mark-Methode . . . . . 487 ff.
Kupferoxyd-Hämatoxylin . 624

L.

Labyrinth des Menschen 745 f.
Laichzeit 628, 635
Lantermansche Segmente 417 f.
Leber . . . . . 555 ff.
» Bindegewebe . . 567 ff.
» Gallenkapillaren . 559 ff.
» Glykogen 574
» Nerven 575
» Sternzellen . . 568, 570
Lebersche Berlinerblaumethode 717
Leberzelle 556
Lepkowskys Methode . . 380
Leukocyten . . . . . 285 ff.
Linse . . . . . 726 ff.
Linsenfasern . . . . 727 f.
Lösung des Eiweifses . . 145
Lösungsmittel für Silbernitrat 268
Löwit-Fischersche Goldmethode 434
Lunge . . . . . 579 ff.
» Respiratorisch. Epithel 581
» Elastische Fasern . 582 f.
Lymphe . . . . . 273 ff.
Lymphdrüsen . . . . 509 ff.
Lymphnoduli . . . 510, 543
Lymphspalten-Fettimprägnation . 507
» -Einstichinjektion 508
Lysol 67

M.

Magen . . . . . 524 ff.
Magenta, siehe Fuchsin.
Mallsche Methode . . . 513
Marchis Methode . . . 493 f

§§
Markhaltige Nervenfasern 417 ff., 482 ff.
Marklose Nervenfasern . 428
Martinottische Methode . 686
Mastzellen 298
Material für Muskelvergoldung 439
P. Mayers Karmin . 183, 187
» » Hämalaun . . 189
Mays' Heber 264
Media der Gefäfse . . . 499
Mehrfachfärbungen . . . 176, 212 ff., 232
Meifsnersche Körperchen 691 ff.
Meifsnerscher Plexus . . 554
Merkelsche Flüssigkeit . 708
Mesenterium 1, 4, 265, 269, 411
Messer für Mikrotome 108 f., 118
Messerhalter 100
Messerschlitten . . . 98, 99
Messerstellung . 118, 127, 128
Methylenblau 269, 300 f., 431, 456, 458, 477 ff., 520, 535, 736
Methylenblaufixation . 479 f.
Methylgrün 208, 228, 229, 230, 231, 250, 386
» -Eosin . . . 228
» -Fuchsin S. . . 229
» » » Orange 231, 284, 302
» -Safranin . . 230
Methylviolett 377
Mikrometerschraubenschlitten . . . . . 105 f.
Mikrotom . . . . . 96 ff.
Automatisches M. . . . 113
Jung (Thoma-Rivet-Brandt) M. . . . 98 ff.
Ranviers M. 97
Reinhold-Giltays M. . . 113
Schanzes (Rivet-Weigert) M. 112
Milz . . . . . 509 ff.
Mitosen . . . . . 246 ff.
Modellieren . . . . . 237 ff.
Molybdänsaures Ammoniak-Chromsäure 253
Motorische Nervenendigungen . . . . . 430 ff.
Muchämatein 537

Digitized by Google

§§
Mucikarmin 536
Mucin . . . . . 535 ff.
Mucosa 525
Müllersche Fasern . . . 737
» Flüssigkeit . 30, 363
Mundhöhlenschleimhaut . 518
Muschenkoffs Goldmethode 438
Muskelfibrillendarstellung 394 f.
Muskeln . . . . . 390 ff.
Muskelscheibendarstellung 395
Muskel und Sehne . . 402 ff.
Myelintropfen 418
Myokard 415

N.

Nase . . . . . 747 ff.
Natriumhypochlorid . . . 638
Natürliche Färbung . . . 168
Neapler Wasserbad . . . 82
Nebenniere 599
Negros Methode 441
Nelkenöl . . . 135, 154, 178
Nerv . . . . . 417 ff.
Nerven der Epidermis . 701 f.
Nerven der Leber . . . 575
Nervenendigungen 430 ff., 690 ff.
Nervenfasern . . . . 417 ff.
Nervenfibrillen 427
Netzknorpel . . . 342, 346 ff.
Neurogliafärbung 495
Neutrale Teerfarben . . 204
Niere . . . . . 588 ff.
Nigrosin 323
Nifsls Hämatoxylinfärbung 201
Nifslsche Körperchen . 455 ff.
Nifsl-Rehmsche Methode 491 f.
Noduli 510, 543
Nuelsche Methode . . . 713

O.

Objektschlitten . . . 98, 102
Objektträger 2
Öle 73, 90
Ölen des Mikrotoms . . 115
Oesophagus 521
Ohr . . . . . 739 ff.
Omentum 1
Orange . . 223, 231, 249, 296
Orceïn 174, 327, 516, 540, 583

§§
Orientieren 85
Orientierungsapparat . . 103
Origanumöl . . . 90, 92, 136
Osmiumsäure, s. Osmiumtetroxyd.
Osmiumtetroxyd 37 ff., 268, 280, 289, 336, 398, 419, 421, 427, 731
Osmiumtetroxyd als Isolationsmittel 259
Ossifikation 385
Ovarien . . . 600 ff., 608 ff.

P.

Pacinische Körperchen . 698 ff.
Palsche Hämatoxylinfärbung 485
Pankreas . . . . . 551 ff.
Papillen der Zunge . . 519 f.
Paraffin . . . . . 69 ff., 163
Paraffinbefreiung . 132 ff., 153
Paraffin-Canadabalsam . . 164
Paraffindurchtränkung . 72 ff.
Paraffinlösende Flüssigkeiten 73
Paraffinsorten 76
Paraffin, überwärmtes . . 77
Paraffinum liquidum . 68, 303
Parakarmin 187
Parallelfaseriges Bindegewebe 317
Perényische Flüssigkeit 62, 597
Perikard 497
Pflasterepithelien 255
Phloroglucin 365
Photoxylin 89, 741
Physiologische Kochsalzlösung 12, 255
Physiologische Selbstinjektion 560, 593
Pigmentzellen . . 4, 168, 249
Pigmentzerstörende Mittel 724 f.
Wasserstoffhyperoxyd . 724
Nascierendes Chlor . . 725
Pikrinessigsäure 648
Pikrinosmiumessigsäure . 48
Pikrinosmiumplatinchlorid-Essigsäure 49
Pikrinsäure 59, 219, 222, 251, 357, 513

Digitized by Google

§§
Pikrinsalpetersäure, P. Mayer **60**, 357
Pikrinsaurer Ammoniak . 478
Pikrinschwefelsäure, Kleinenberg . **60**, 645, 653, 662
Pikrinsublimat 61
Pikrinsublimatosmiumsäure 50
Pikrokarmin 214
Pikromagnesiakarmin . . 213
Pikronigrosin 323
Pilokarpin 523
Pinselmethode 511
Plastische Rekonstruktion 237 ff.
Platinchloridlösung, Rabl 64
» Osmiumsäure Eisessig . . . 47, 622
Platinchloridsublimat . . 65
Plattenmodelliermethode 237 ff.
Prichardsche Lösung . . 697
Progressive Färbung 172, 203
Projektive Rekonstruktion 236
Protoplasmastrukturen . 249 f.
Purkinjesche Ganglienzellen 459
» Fäden . . . 416
Pyrogallussäurereaktion . 550

Q.

Quecksilberchlorid, siehe Sublimat.
Quergestreifte Muskeln . 390 ff.
Querstellung des Mikrotommessers 128

R.

Ramon y Cajals Modifikation 470
Ranviers 1/3 Alkohol . . 257
Ranviersche Einschnürungen . . . 417 ff.
» Goldmethode 436
Ranviers Kreuze 420
» Mikrotom . . . 97
Rasiermesser . . . . . 6 f
vom Raths Gemische 48, 49, 50
Regressive Färbung . 172, 203
Regulator, s. Thermoregulator.
Rekonstruktionsmethoden 233 ff.
Remaksche Fasern . . . 428
Reptilieneier . 602, 605, 635 ff.

§§
Respirationsorgane . . 576 ff.
Respiratorisches Epithel . 581
Retikuläres Gewebe 329, **511** ff.
Retikuliertes Gewebe (Mall) 513
Retina . . . . . 729 ff.
Richtebene 238
Richtfläche 236, 238
Richtleisten 236, 238
Richtlinie 238
Rillentrog 179
Ripart und Petits Flüssigkeit **16**
Rippenknorpel 349
Rolletts Goldmethode . . 397
Rote Blutkörperchen . 273 ff.
» » auf Schnitten . . . . . 281 ff.
Rote und weifse Muskeln 399
Rubin S., siehe Fuchsin S.
Rückenmark . . . . 445 ff.

S.

Säugetiereier 603 f., 606 f., 659 ff.
Safranin . . **206**, 225, 230, 249
» Gentianaviolett . 622
» -Indigokarmin . . 217
» Pikrinsäure . . . 219
Salpetersäure **58**, 246, 268, 358, 408, 591, 727, 730
» -Silbernitrat 268, 656
Salzsäure 355
» -Chromsäure . . 356
Sarcolemma . . . . . 391 f.
Sauersche Flüssigkeit . . 597
Saure Teerfarben . . . 204
Schaltstücke 548
Schanzes Mikrotom . . . 112
Scheide 614
Schema für Weiterbehandlung des Paraffinschnitts 167
Schema für Durchtränkung 95
Schilddrüse . . . . . 585 f.
Schlaffer Muskel 398
Schleifen . . . . . 373 ff.
Schleimdrüsen . . . . 535 ff.
Schleimfärbung . . . 535 ff.
Schlittenmikrotome . . . 96
Schlufsleistennetz . . . 200
Schmeckbecher . . . 519 f.

Digitized by Google

§§
Schmelzpunkt des Paraffins 76
Schnecke . . . . . 742 ff.
Schneiden mit dem Rasiermesser . . . . . 6 f.
Schneiden mit dem Doppelmesser 9
Schneiden mit d. Mikrotom 122 ff.
Schneiden von Celloidinpräparaten 131
Schneiders Karmin . 145, 180
Schnittdicke . . . . 105 ff.
Schnittfärbung 176
Schnittstrecker 123
Schrumpfung bei Fixierung 23
Schüttelmethode 511
Schultzesches Jodserum 13, 258
Schutzleisten der Deckgläschen 603
Schwannsche Scheide . . 424
Schwefelbleifärbung . . . 475
Schweflige Säure . . **354**, 741
Sclera 721
Sehne . . . . . 317 ff., 331
Sekretkapillaren . . 527, 547
Selbstinjektion der Gallenkapillaren 560
Sensible Nervenendigungen 690
Serienschneiden 132
Sharpeysche Fasern 379, 381 ff.
Sihlersche Methode . . . 442
Silbermethoden **265 ff.**, 330, 420, 422, 467 ff., 509, 514, 527, 569, 572, 575, 581, 596, 715 f., 737, 751
Silbermethode am Spirituspräparat 514, 572
Silbernitrat für Cutis . . 330
Silbernitratgelatine . . . 508
Speichelröhren . . . 549 f.
Spermatozoen . . . . 616 ff.
Stechapfelform der roten Blutkörperchen . . . 274
Sternzellen . . 568, 570, 571
Stöhrsche Goldmethode . 444
Strassersche Klebemasse 239, 642
Stratum corneum 677
» granulosum . . 679
» lucidum 678
» spinosum . . 681 f.

§§
Ströbes Axencylinderfärbung 444
Stückfärbung 176
Stützgewebe des Darms 540 ff.
Sublimat . . **51**, 246, 293, 657
Sublimatalkohol 54
Sublimatchromsäure . . . 56
Sublimat-Eisessig 631
Sublimat-Kochsalzlösung **53**, 293
Sublimatkrystalle 51
Sudan 337
Sympathicus 428

T.

Tabelle der Mehrfachfärbungen 232
Tabelle der Termini technici 244
Tabelle für Durchtränkungsdauer 78
Tabelle zur Alkoholverdünnung 19
Taenzer-Unnasche Orceïnfärbung 327
Tastscheiben . . . . 703 f.
Teerfarben 174, **203 ff.**, 206 ff., 212 ff.
Anilinblau . . . 377, 463
Bismarckbraun 209
Bleu de Lyon . . **215**, 387
Dahlia . . . 298, **299**, 343
Eosin . . 220 f., 228, 282 f., 296 f., 386
Erythrosin 459
Fuchsin **210**, 457
Fuchsin S. 222, 229, 231, 251, 301, 322, 323, 326, 348, 513
Gentianaviolett 211, 249, 622
Indulin 296, 297
Kongorot . . 529, 541, 542
Magenta, s. Fuchsin.
Methylenblau 269, 300, 301, 431, 456, 458, **477 ff.**, 520, 535, 736
Methylgrün 208, 228, 229, 230, 231, 250, 386
Methylviolett 377
Nigrosin 323
Orange . . 223, 231, 249, 296
Rubin S., s. Fuchsin S.
Safranin . **206**, 225, 230, 249
Thionin . . 207, 455, 535

Digitized by Google